

Estructura y efecto antioxidante de Flavonoides Aislados: *Viguiera procumbens* (Persoon) S.F. Blake



Rosel Quispe Herrera
Yony Flora Fernández Herrera
Jhon Rony Roque Huamaní
Yolanda Paredes Valverde

ESTRUCTURA Y EFECTO ANTIOXIDANTE DE FLAVONOIDES AISLADOS

Viguiera procumbens (Persoon) S.F. Blake

Rosel Quispe Herrera

Yony Flora Fernández Herrera

Jhon Rony Roque Huamaní

Yolanda Paredes Valverde



Rosel Quispe Herrera

Correo: rherrera@unamad.edu.pe

Perfil: Profesor principal de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Químico, Magister en Ciencias: Química, Doctor en Educación, docente investigador e investigador CONCYTEC.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8672-2490>

Afiliación: Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios

Yony Flora Fernández Herrera

Correo: yfernandez@unamad.edu.pe

Perfil: Químico Maestro en Ciencias de la Educación con Mención en Docencia y Gestión Educativa, estudios de maestría Docencia Universitaria, y diplomados en: docencia universitaria, especialista en TICs, y Psicología Educativa. Docente auxiliar de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0157-2302>

Afiliación: Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios

Jhon Rony Roque Huamaní

Correo: jroqueh21-1an@unamad.edu.pe

Perfil: Egresado de la maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Título Profesional en Ingeniería Agroindustrial. Actualmente se desempeña como Especialista de Seguimiento en el Servicio Nacional de Adiestramiento en Trabajo Industrial, SENATI, Puerto Maldonado.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7117-1868>

Afiliación: Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios

Yolanda Paredes Valverde

Correo: yparedes@unamad.edu.pe

Perfil: Docente Principal de la Universidad Nacional Amazónicas de Madre de Dios, doctor en Educación, maestría en Ciencias de la Educación, Economista, docente investigador e investigador CONCYTEC.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6274-3473>

Afiliación: Universidad Nacional Amazónicas de Madre de Dios

Todas nuestras publicaciones son sometidas a revisión doble-ciego de pares académicos (Peer Review Double Blinded).

Esta publicación cuenta con licencia Creative Commons Reconocimiento - NoComercial - SinObraDerivada 3.0 Unported License.



ISBN 978-607-59951-7-5

© Rosell Quispe Herrera

© Yony Flora Fernández Herrera

© Jhon Rony Roque Huamaní

© Yolanda Paredes Valverde

2023

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10091213>

© Editorial Tercer Sol

www.editorialtercersol.com

Este libro es resultado de la investigación “*Flavonoides de Viguiera procumbens (Persoon) S.F. Blake y su efecto antioxidante*”, realizada en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Queda prohibida la reproducción bajo cualquier modalidad de toda o una parte de esta obra sin autorización expresa del titular de los derechos.

Diseño de carátula y composición: Editorial Tercer Sol

Edición electrónica: Editorial Tercer Sol

Editado en México/ *Published in Mexico*



ÍNDICE DE TABLAS.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
INTRODUCCIÓN.....	11

CAPÍTULO I

LOS FLAVONOIDES	14
1.1 Definición	17
1.2 Estructura química, clasificación y síntesis	19
1.3. Métodos de separación	22
1.3.1. Extracción.....	23
1.3.2. Aislamiento y purificación.....	25
1.3.3. Cromatografía de Papel Bidimensional.....	25
1.3.4. Cromatografía de Capa Fina.....	26
1.3.5. Cromatografía de Columna.....	28
1.3.6. Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS)	29
1.4. Funciones y propiedades	29
1.5. Localización en los alimentos	32
1.6. Farmacocinética	35
1.7. Funciones antioxidantes	36
1.7.1. Determinación del efecto antioxidante	39
1.8. Mecanismos prooxidantes.....	40



CAPÍTULO II

FLAVONOIDES DE VIGUIERA PROCUMBENS (PERSOON) S.F. BLAKE.....41

2.1. Taxonomía	42
2.2. Aspectos etnobotánicos.....	43
2.3. Aspectos fitoquímicos.....	44
2.4. Aspectos farmacológicos.....	44
2.5. Aspectos toxicológicos	45
2.6. Aspectos botánicos.....	45

CAPÍTULO III

FLAVONOIDES DE VIGUIERA PROCUMBENS (PERSOON) S.F. BLAKE Y SU EFECTO ANTIOXIDANTE 47

3.1. Objetivo general.....	47
3.2. Objetivos específicos.....	48
3.3. Hipótesis	48
3.4. Tipo y diseño de investigación	48
3.5. Población, muestra y muestreo.....	49
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	50
3.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	50
3.7.1. Equipos	51
3.7.2. Reactivos	51
3.7.3. Solventes	52
3.8. Resultados y Discusión	53
3.8.1. Determinación de la humedad:	53
3.8.2. La obtención de extractos	53
3.8.3. La Evaluación Fitoquímica	54
3.8.4. Aislamiento de los flavonoides.....	55
3.8.5. Identificación de los flavonoides.....	55
3.8.6. De la curva patrón.....	70
3.8.7. Efecto antioxidante de los extractos crudos	73
3.8.8. Efecto antioxidante de los flavonoides aislados	74



3.8.9. Flavonoide aislado R2.1 (7-hidroxiiflavanona).....	76
3.8.10 Flavonoide aislado R2.2 (7-hidroxiidihidroflavonol)	76
3.8.11. Flavonoide aislado R3.1 (5,6,7-trihidroxiisoflavona).....	76
3.8.12. Flavonoide aislado R4.1 (6,7-dihidroxiiflavonol).....	76
3.8.13. Referencias a los flavonoides aislados	77
3.9. Conclusiones y recomendaciones	78

CAPÍTULO IV

REFLEXIONES FINALES.....	79
--------------------------	----

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
----------------------------------	----



ÍNDICE DE TABLAS



Tabla 1

Flavonoides comunes, su fuente frecuente y subclase.....33

Tabla 2

Porcentajes de extracción en diferentes solventes54

Tabla 3

Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos crudos.....54

Tabla 4

Valores Rf de los flavonoides aislados.....69

Tabla 5

Absorbancia de los patrones.....70

Tabla 6

Absorbancia y efecto antioxidante en función de mg de ácido ascórbico de los extractos crudos73

Tabla 7

Efecto antioxidante de 1 mg extracto crudo en función a mg de ácido ascórbico74

Tabla 8

Absorbancia y efecto antioxidante en función de mg de ácido ascórbico de los flavonoides aislados74

Tabla 9

Efecto antioxidante de 1 mg del flavonoide aislado en función a mg de ácido ascórbico.....75



ÍNDICE DE FIGURAS



Figura 1	
<i>Flavonoide</i>	<i>18</i>
Figura 2	
<i>Clasificación de los Flavonoides</i>	<i>21</i>
Figura 3	
<i>Propiedades del solvente en la extracción de los flavonoides</i>	<i>24</i>
Figura 4	
<i>Flavonoides en los alimentos</i>	<i>38</i>
Figura 5	
<i>Taxonomía <i>Viguiera procumbens</i></i>	<i>43</i>
Figura 6	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.1 en metanol.....</i>	<i>56</i>
Figura 7	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.1 en NaoMe.....</i>	<i>56</i>
Figura 8	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.1 en NaOAc.....</i>	<i>57</i>
Figura 9	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.1 en NaOAc/H3BO3.....</i>	<i>57</i>
Figura 10	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.1 en AlCl3</i>	<i>58</i>



Figura 11	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.1 en $AlCl_3/HCl$.....</i>	<i>58</i>
Figura 12	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.2 en metanol.....</i>	<i>59</i>
Figura 13	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.2 en $NaOMe$.....</i>	<i>60</i>
Figura 14	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.2 en $NaOAc$.....</i>	<i>60</i>
Figura 15	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.2 en $NaOAc/H_3BO_3$.....</i>	<i>61</i>
Figura 16	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.2 en $AlCl_3$</i>	<i>61</i>
Figura 17	
<i>Absorción UV del flavonoide R2.2 en $AlCl_3/HCl$.....</i>	<i>62</i>
Figura 18	
<i>Absorción UV del flavonoide R3.1 en metanol.....</i>	<i>63</i>
Figura 19	
<i>Absorción UV del flavonoide R3.1 en $NaOMe$.....</i>	<i>63</i>
Figura 20	
<i>Absorción UV del flavonoide R3.1 en $NaOAc$.....</i>	<i>64</i>
Figura 21	
<i>Absorción UV del flavonoide R3.1 en $NaOAc/H_3BO_3$.....</i>	<i>64</i>
Figura 22	
<i>Absorción UV del flavonoide R3.1 en $AlCl_3$</i>	<i>65</i>



Figura 23	
<i>Absorción UV del flavonoide R3.1 en $AlCl_3/HCl$.....</i>	<i>65</i>
Figura 24	
<i>Absorción UV del flavonoide R4.1 en metanol.....</i>	<i>66</i>
Figura 25	
<i>Absorción UV del flavonoide R4.1 en $NaOMe$.....</i>	<i>67</i>
Figura 26	
<i>Absorción UV del flavonoide R4.1 en $NaOAc$.....</i>	<i>67</i>
Figura 27	
<i>Absorción UV del flavonoide R4.1 en $NaOAc/H_3BO_3$.....</i>	<i>68</i>
Figura 28	
<i>Absorción UV del flavonoide R4.1 en $AlCl_3$</i>	<i>68</i>
Figura 29	
<i>Absorción UV del flavonoide R4.1 en $AlCl_3/HCl$.....</i>	<i>69</i>
Figura 30	
<i>Curva Patrón de Ácido Ascórbico para determinar el efecto antioxidante.....</i>	<i>71</i>



Como la mayoría de los productos naturales, la investigación química sobre flavonoides surgió de la búsqueda de nuevos compuestos con propiedades fisiológicas útiles. Ahora bien, si se parte desde la parte más básica, “flavo” deriva del latín *flavus*, el cual, según el Diccionario de la Real Academia Española (DRAE), se clasifica como un adjetivo y se define como “color entre amarillo y rojo, como el de la miel o el del oro” (s.f). En consecuencia, los flavonoides son una clase de pigmentos heterocíclicos aromáticos que contienen oxígeno; están ampliamente distribuidos en las plantas y representan la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas (Escamilla, et al., 2009).

Con base en la anterior premisa, no es ilógico pensar cómo, a través de los años, y pese a que la ciencia médica avanza, se desarrolla, crece, mejora y busca posicionarse como la única posible para solucionar los problemas y las diversas enfermedades de todos los seres vivos. Siempre hay algunos científicos que vuelven a lo natural, a la tierra y a lo que nos ofrece el ambiente para encontrar mejores soluciones y otras alternativas mucho más sanas, a las que quizá sea mucho más fácil acceder.

No es una mentira para nadie que los seres humanos se han beneficiado de las propiedades nutricionales y medicinales de los granos, legumbres, pseudocereales, tallos, raíces, hojas, frutas, verduras y sus derivados desde la Antigüedad. Estas propiedades se atribuyen a los fitoquímicos asociados con estos tejidos.

En una definición simple, los fitoquímicos pueden describirse como aquellos compuestos químicos cuyas actividades biológicas y farmacológicas han sido reconocidas durante muchos años. Aunque los fitoquímicos están presentes en los alimentos, no entran en la categoría de nutrientes, tampoco son macronutrientes y no pertenecen a los grupos de vitaminas o minerales. Por tanto, no tienen una función energética ni nutritiva, pero están presentes en determinados alimentos que aportan diversas funciones beneficiosas. En consecuencia, los alimentos que contienen fitoquímicos se denominan alimentos funcionales, porque brindan otros beneficios para la salud, además de su valor nutricional.

En una dieta saludable normal, podemos encontrar ciertas cantidades de fitoquímicos que son suficientes para beneficiar a nuestro organismo. Asimismo, mezclar diferentes fitoquímicos en un mismo alimento puede potenciar sus efectos mejor que cuando se toma solo o como suplemento. Para Bimakr et al. (2011), los fitoquímicos más comunes son los flavonoides, que han sido ampliamente estudiados por su abundancia y propiedades bioactivas, como propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, antioxidantes, antimutagénicas, antitrombóticas, antivirales, antibacterianas y vasodilatadoras.

En relación con lo mencionado, Acosta et al. (2015) señalan que, a lo largo de la historia, las hierbas medicinales han reflejado conocimientos adquiridos durante miles de años y transmitidos por nuestros antepasados como parte del patrimonio cultural de la humanidad. El rechazo mundial actual a las drogas sintéticas debido a sus efectos secundarios ha llevado a científicos y profesionales médicos a explorar el uso de productos naturales derivados de plantas medicinales para prevenir y tratar de manera efectiva y segura diversas condiciones de salud en poblaciones de diferentes países.

En suma, cada uno de los esfuerzos científicos nacen de la necesidad de buscar soluciones menos nocivas a las diversas enfermedades que van creándose en consecuencia del

crecimiento poblacional y del uso irresponsable de otros fármacos, alimentos o vegetación. Si bien es cierto que los químicos creados en laboratorios pueden traer consecuencias nocivas para el desarrollo, no hay que olvidar que estos cumplen con controles de salubridad que garantizan que el daño al organismo sea mínimo; en ese sentido, y con el fin de fusionar la medicina tradicional con la farmacología, es que se hace menester crear estudios e invertir en investigaciones pertinentes que logren tomar cada uno de los puntos.

El fin de este trabajo fue experimentar con las propiedades polifenólicas de los flavonoides, los cuales actúan como antioxidantes y desactivan los sitios activos de muchas enzimas, como las fenolasas y las metilesterasas, y se han utilizado durante mucho tiempo como tintes para lana; incluso, las características antioxidantes de algunos polihidroxi flavonoides pueden usarse para la conservación de grasas o jugos. A continuación, se explicarán y mostrarán los resultados del estudio de los flavonoides de la especie *Viguiera procumbens* (Persoon) S.F. Blake, cuyo propósito fue aislar y determinar las posibles estructuras de los flavonoides mediante espectroscopia UV y evaluar la actividad antioxidante de los flavonoides aislados y sus extractos crudos de partes aéreas.



CAPÍTULO I LOS FLAVONOIDES

En los últimos años, los investigadores han señalado diferentes tipos de flavonoides como factores que influyen en la salud al llevar una dieta rica en frutas y verduras. Al igual que otros fitonutrientes, los flavonoides son poderosos antioxidantes con propiedades antiinflamatorias que respaldan el sistema inmunológico. Estos fitonutrientes se han utilizado históricamente en la medicina tradicional china para proteger la piel, reparar la función cerebral y regular la presión arterial y el azúcar en la sangre.

Actualmente, el conocimiento sobre los flavonoides está creciendo exponencialmente, junto con sus posibles efectos beneficiosos en humanos. Sin embargo, la mayoría de los profesionales de la salud siguen confundidos acerca de cuál es su estructura y qué es realmente un flavonoide. Aunque todos se consideran pigmentos naturales, no todos los pigmentos que se encuentran en las plantas son flavonoides, lo que se traduce en que la investigación, aunque parezca prometedora, aún necesita de muchos años de estudio,



experimentos y diversas técnicas para lograr o, por lo menos, obtener resultados óptimos y que puedan ser considerados exitosos.

En Pérez Trueba (2003), se explica cómo los flavonoides se producen en las células de nuestro cuerpo y apoyan los procesos antioxidantes. Los radicales libres se forman cuando el ser humano (o cualquier ser vivo, en realidad) está expuesto a ciertas sustancias nocivas como el hidroxilo y el superóxido; por ejemplo, el smog, la contaminación o la radiación solar. En consecuencia, los flavonoides son capaces de neutralizar estos radicales libres y prevenir el daño celular que provocan. Además, se ha demostrado que estimulan la síntesis de ciertas enzimas, que también son antioxidantes, por lo que su efecto es doble.

Actualmente, los flavonoides se consideran componentes indispensables en diversas aplicaciones nutricionales, farmacéuticas, médicas y cosméticas. Esto se debe a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimutagénicas y anticancerígenas, así como su importancia y alta capacidad para regular la actividad de enzimas celulares clave.

La investigación sobre los flavonoides ha recibido un nuevo impulso con el descubrimiento de la baja mortalidad cardiovascular y la protección contra la enfermedad coronaria. De igual manera, hay que destacar que se desconoce el mecanismo de acción de los flavonoides; sin embargo, se sabe desde hace siglos que los derivados de plantas tienen una amplia gama de actividades biológicas. Las tendencias actuales en las actividades de investigación y desarrollo de flavonoides se relacionan con el aislamiento, identificación, caracterización y función de los flavonoides y, en última instancia, su uso para mejorar la salud. Los conocimientos del acoplamiento molecular y la bioinformática también se utilizan para predecir aplicaciones e industrias potenciales (Panche et al., 2016).

En consecuencia, la investigación actual sobre los flavonoides está cobrando mucha importancia, porque la mayoría de ellos protegen contra el daño oxidante. Por lo general,



se deben buscar plantas que contengan estos compuestos, como la *Brassica deracea* L., una especie nativa de Europa (Reino Unido, Dinamarca, Francia y Países Bajos). Es comúnmente utilizada para tratar la inflamación crónica del revestimiento del estómago y las úlceras pépticas; también, tiene un alto contenido de compuestos anticancerígenos y antioxidantes. “En Perú hay variedades de col como ‘col’, ‘verde’, ‘morada o roja’”. En el estudio de Fernández Rebaza et al. (2015), se utilizó para evaluación etnobotánica y fitoquímica, según Olga Lok, la planta *Brassica oleracea* L, Col morada o “*Purple Cabbage*”, con algunas variantes de extracto etanólico de hoja. Luego, el uso de técnicas cromatográficas permite la separación de compuestos del extracto, usando síficagel 60 G, el adsorbente óptimo para la separación de sustancias polares: usando espectroscopía UY-Vis para sugerir estructuras químicas que pueden ser responsables de la actividad citotóxica del cáncer o células causantes.

Por lo anterior, se pueden plantear conclusiones aproximadas: por un lado, los flavonoides son versátiles, universales y necesarios para iniciar una investigación exhaustiva que favorezca a todas las personas; por otro lado, por lo observado en diversas fuentes en varios idiomas, aún no puede verse a los flavonoides como un tema agotado o con verdades absolutas sobre su desarrollo y actividad química en el cuerpo humano.

Como generalidades, Duke (2010) explica que los flavonoides son un grupo de compuestos bioactivos que se encuentran en los alimentos de origen vegetal. Hasta la fecha, se han identificado más de 4000 flavonoides diferentes, y esto puede ser solo la punta del iceberg. Se ha demostrado que muchos tienen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Dada la cantidad de flavonoides potentes que existen, es imposible enumerarlos a todos, pero es posible que se haya oído hablar en los medios de comunicación sobre el resveratrol, una sustancia química que se encuentra en la piel y las hojas de las uvas, los cacahuets, las moras y algunas malas hierbas no tan apetecibles. El resveratrol previene la formación de



coágulos de sangre. Algunos investigadores incluso sugieren que ralentiza el proceso de envejecimiento a nivel celular.

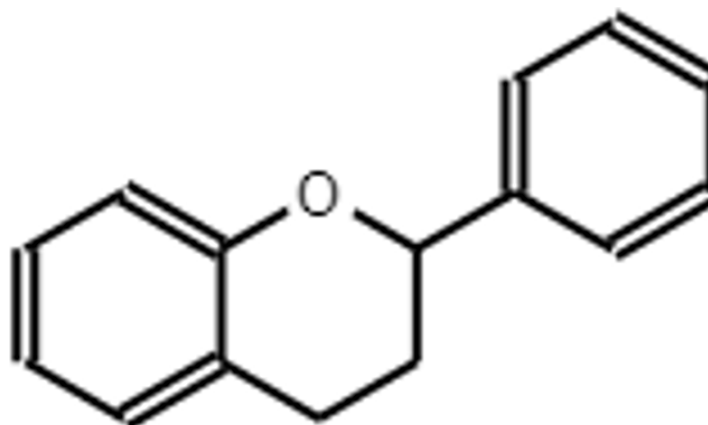
1.1 Definición

Los flavonoides son sustancias de bajo peso molecular producidas por casi todas las plantas vasculares. Esta gran clase de compuestos existe en la naturaleza desde hace más de mil millones de años, por lo que interactúan con la evolución de muchos organismos. Los flavonoides desempeñan un rol importante en la naturaleza y han estado presentes en las plantas vasculares a lo largo de la evolución. Esta relación entre las plantas productoras de flavonoides, diversas especies animales y otros organismos puede explicar la extraordinaria gama de actividades bioquímicas y farmacológicas que estos productos ejercen sobre humanos y otros mamíferos, resultado de la coexistencia o coevolución de los dos reinos (Estrada-Reyes et al., 2012).

“Flavonoides” es el término genérico más usado para referirse a una gran mayoría de metabolitos vegetales secundarios, los cuales se encuentran en una variedad de frutas y verduras de colores brillantes (arándanos, ciruelas, manzanas, bayas, naranjas, fresas, espinacas), quienes protegen las células del cáncer que se desarrolla a partir de estas lesiones u otras enfermedades; sin embargo, los flavonoides no solo se encuentran en estos alimentos, sino también en el chocolate amargo, las nueces, el maní (los frutos secos en general), el vino tinto, la soya y el té.



Figura 1
Flavonoide



Nota. Tomado de Cabrera y Mach (2012).

De igual forma, los flavonoides son uno de los subgrupos de polifenoles naturales que más atención ha recibido en la comunidad científica en los últimos años. Sus diversas propiedades biológicas observadas experimentalmente y su abundancia en la dieta, así como su presencia en muchas medicinas tradicionales, las convierten en una candidata atractiva para explicar la relación entre el consumo de ciertos productos a base de plantas y la reducción del riesgo de ciertas enfermedades. Para Álvarez Castro y Orallo Cambeiro (2003), los flavonoides pueden ser unos fuertes candidatos para curar enfermedades crónicas o ser el apoyo y complemento de diversos fármacos.

El cuerpo no puede producir estos químicos protectores, por lo que deben obtenerse a través de la dieta o suplementos. Se distribuyen ampliamente en plantas, frutas, verduras y diversas bebidas, y son importantes partes no energéticas de la dieta humana. Además de sus efectos antioxidantes conocidos, los flavonoides tienen otras propiedades, incluida la estimulación de la comunicación de uniones gap, efectos sobre la regulación del crecimiento celular y la inducción de enzimas de desintoxicación como la monooxigenasa-450, dependiente del citocromo P (Martínez-Flórez et al., 2002).



Los flavonoides son compuestos aromáticos que pueden existir en forma libre o en combinación con glucósidos. Se producen más de veinte de estos metabolitos, principalmente en las hojas (Ángeles López et al., 2014). En resumen, los flavonoides son una serie de compuestos químicos que se encuentran de forma natural en muchas frutas y verduras. También, se encuentran en productos vegetales como el vino, el té y el chocolate. Hay varios tipos diferentes de flavonoides en los alimentos, y cada uno se descompone de diferentes maneras en el cuerpo. Los flavonoides son ricos en actividad antioxidante y ayudan a proteger el cuerpo de las toxinas diarias. Agregar más flavonoides a la dieta es una excelente manera de ayudar al cuerpo a mantenerse saludable y posiblemente reducir el riesgo de ciertas enfermedades crónicas.

Según Ullah et al. (2020), los flavonoides se han utilizado en tintes naturales, en cosméticos y productos para el cuidado de la piel y como agentes antiarrugas cutáneas. Sin embargo, las aplicaciones más pronunciadas de estos polifenoles se encuentran en el campo de la medicina. Los flavonoides se han utilizado ampliamente como agentes anticancerígenos, antimicrobianos, antivirales, antiangiogénicos, antipalúdicos, antioxidantes, neuroprotectores, antitumorales y antiproliferativos. Los extractos de cáscara de manzana ricos en flavonoides inhiben la acetilcolinesterasa (ACE) in vitro y son un agente antihipertensivo eficaz. También, previene los trastornos cardiometabólicos y muestra una mejor conservación del rendimiento cognitivo con el envejecimiento.

1.2 Estructura química, clasificación y síntesis

Químicamente, según Cartaya (2013), estas sustancias tienen un carácter fenólico caracterizado por dos anillos aromáticos de benceno conectados por un puente de tres carbonos, con la estructura general C₆-C₃-C₆, con o sin formación de un tercer anillo. De igual forma, Rodríguez De Luna et al. (2020) estudian estos compuestos y concluyen



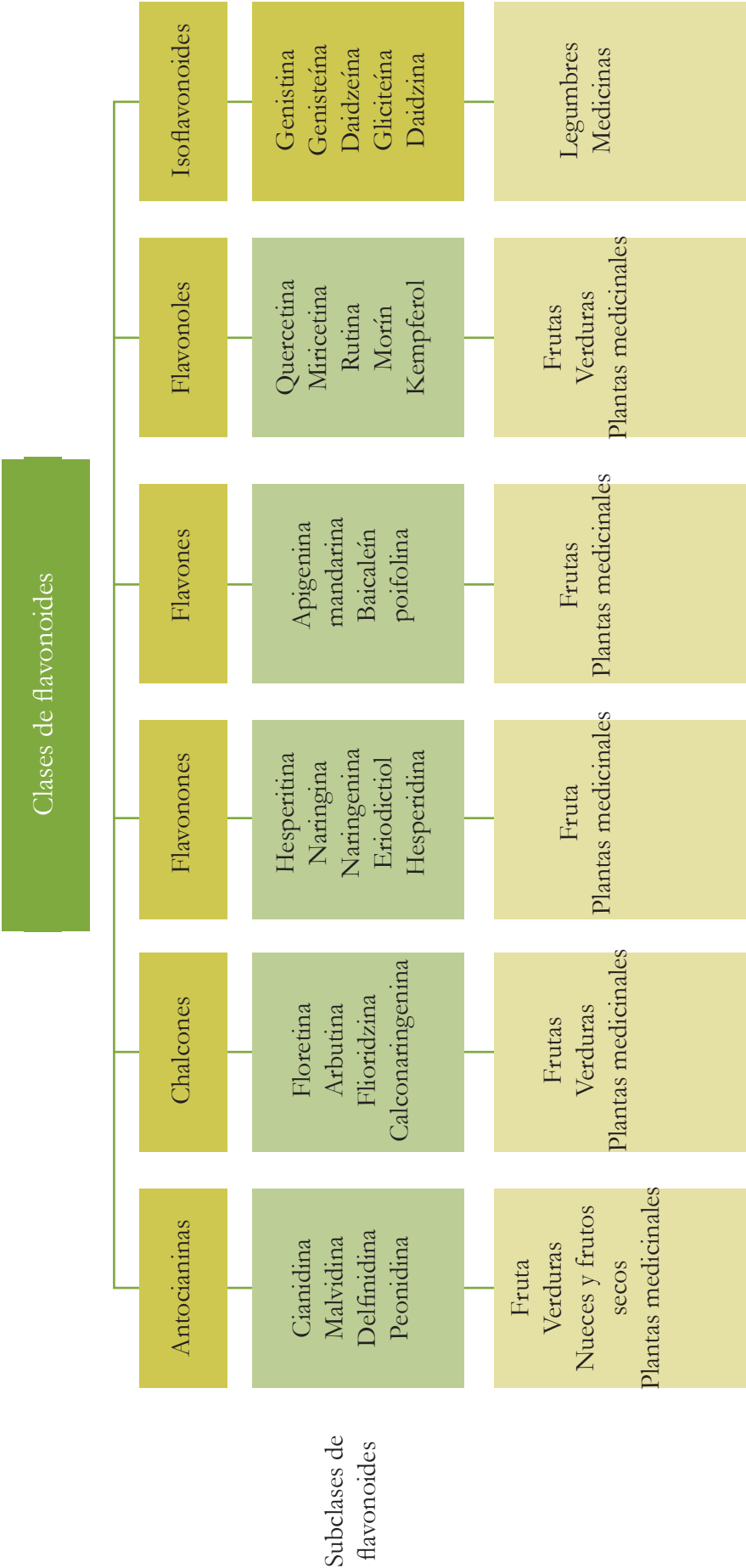
que los flavonoides se clasifican principalmente en catorce grupos, teniendo en cuenta la naturaleza química de la molécula y las posiciones de los grupos sustituyentes en los anillos A, B y C. A continuación, se muestran los tipos más conocidos:

- a. **Auronas:** en las auronas, por la posición de los grupos, el anillo piránico de las chalconas se convierte en un anillo furano.
- b. **Flavanonas:** las flavanonas hidroxiladas se presentan en forma libre o combinadas como glucósidos en flores, hojas, frutos, etc. Parecen ser de distribución general, especialmente en plantas superiores.
- c. **Isoflavonas:** se encuentran comúnmente en las leguminosas. La 3-fenilcromen-4-ona es el esqueleto base de los isoflavonoides, que se forma durante la vía biosintética, donde un anillo bencénico migra de la posición 2 a la posición 3 del anillo central.
- d. **Flavonas:** estos flavonoides tienen la estructura química general de 2-fenil-1-benzopiran-4-ona. Se encuentran principalmente en productos alimenticios como la miel y las uvas.
- e. **Flavonoles:** químicamente, estos flavonoides tienen como columna vertebral la estructura de la 3-hidroxiavona y se sabe que están presentes en una amplia variedad de frutas y verduras.
- f. **Antocianidinas:** este tipo de flavonoide se encuentra en la mayoría de las frutas silvestres, especialmente en las que tienen un color púrpura. Su constitución estructural se basa en el 2-fenilbenzopirilio.
- g. **Antocianinas:** estos flavonoides presentan una estructura similar a las antocianidinas, solo que las antocianinas tienen una parte glucosilada unida al sustituyente de oxígeno del carbono 3. También se encuentran en los frutos rojos.



Sin embargo, Panche et al. (2016) plantean la siguiente clasificación:

Figura 2
Clasificación de los Flavonoides



Nota. Adaptada de Panche et al. (2016).



1.3. Métodos de separación

Según Bimakr (2011), los flavonoides son metabolitos secundarios sintetizados por plantas que brindan color y protección UV y se consideran los pigmentos más comunes junto con la clorofila y los carotenoides. También ayudan a prevenir la oxidación de grasas y protegen las vitaminas y las enzimas vegetales. Para estas aplicaciones, los científicos han tratado de extraer flavonoides de plantas utilizando métodos creativos. Uno de los métodos básicos (tradicionales) en las primeras etapas de la extracción de flavonoides es calentar plantas sumergidas en agua. Los antiguos pudieron obtener los compuestos de interés utilizando este método simple. Las variaciones de estos métodos se han ampliado a lo largo de los años con la mejora de la extracción de fitoquímicos y el uso de equipos más sofisticados (métodos no convencionales).

Los métodos tradicionales de extracción de plantas, como la destilación al vapor, la extracción con solventes orgánicos, etc., a menudo toman horas o incluso días, lo que resulta en una gran cantidad de solvente que se desperdicia en el proceso de extracción. Además de las dificultades en el paso de extracción, la separación solvente/solución conduce a la degradación de los componentes termolábiles y el producto puede contener trazas del solvente utilizado, lo que reduce la evaluación de la calidad del rendimiento de extracción (Liza et al., 2010).

Lo que se presenta a continuación son diversas variantes y posibilidades de los métodos de separación, los cuales tienen sus pros, sus contras, y sus diferentes métodos de aplicación, elaboración; por lo tanto, sus resultados variarán conforme a lo que se emplea y lo que se desea buscar en un primer lugar.





1.3.1. Extracción

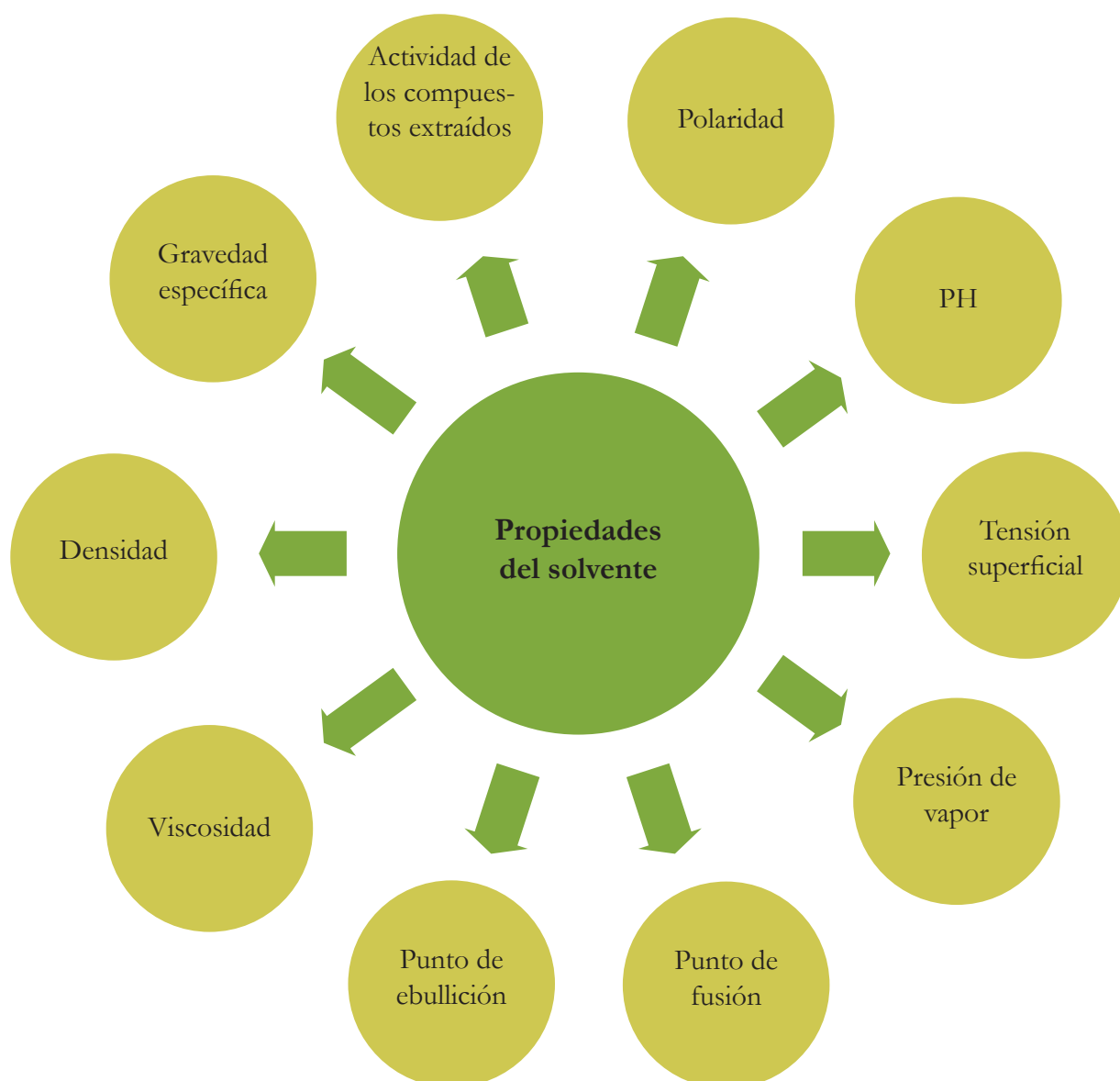
Los métodos de extracción comúnmente utilizados para flavonoides incluyen métodos convencionales como la extracción líquida, la extracción Soxhlet y la extracción ultrasónica, o métodos avanzados como la extracción supercrítica y subcrítica y la extracción con fluido presurizado. Los investigadores están explorando otros posibles métodos que sean más respetuosos con el medioambiente y utilicen menos energía y menos disolventes, a la vez que proporcionan mayores rendimientos (Routray y Orsat, 2012). Es así que la extracción de flavonoides se realiza a partir de material fresco, pero la extracción también se puede realizar a partir de material seco si el proceso de deshidratación no cambia la composición de flavonoides. Los métodos de extracción se dividen en métodos tradicionales y avanzados. La diferencia es que los primeros utilizan disolventes orgánicos que tienen afinidad por la muestra, mientras que los métodos avanzados se basan en nuevos métodos que pretenden sustituir a los disolventes.

Oliveira Chaves et al. (2020) señalan que no hay duda de que la elección del solvente es una variable importante en cualquier método de extracción. Los solventes de extracción deben elegirse principalmente en función de la solubilidad y la fuerza de interacción con la matriz. Las propiedades del solvente a considerar incluyen polaridad, pH, viscosidad, tensión superficial, presión de vapor, punto de fusión, punto de ebullición, densidad, gravedad específica y su efecto sobre la pureza y actividad de los compuestos extraídos. Estos factores deben tenerse muy en cuenta, principalmente porque reducen el umbral de cavitación e inhiben la eliminación de compuestos de la matriz.



Figura 3

Propiedades del solvente en la extracción de los flavonoides



Nota. Adaptada con base en los estudios de Oliveira Chaves et al. (2020).

El procedimiento de extracción óptimo a utilizar depende de:

- El tipo de flavonoide a extraer
- Si la extracción tiene fines cualitativos o cuantitativos

Las antocianinas se extraen fácilmente del suelo o del material vegetal triturado, como pétalos de flores o bayas, utilizando disolventes acidificados a temperatura ambiente.



La última práctica es utilizar ácido fórmico, ácido acético1.3.2. o ácido trifluoroacético (TFA) como componente ácido, ya que es menos probable que provoquen hidrólisis o desacilación durante el procesamiento (Rice-Evans y Packer, 1998).

1.3.2. Aislamiento y purificación

Según Soto et al. (2011), la versatilidad, simplicidad y bajo costo de la purificación por adsorción la hacen atractiva para la recuperación selectiva de varios fenoles y polifenoles. La adsorción también tiene otras ventajas como la selectividad, menos efectos ambientales y toxicológicos. Sin embargo, sí se requiere una caracterización detallada de la interacción entre la resina y los fenoles de plantas individuales para el desarrollo de esta técnica.

En complemento, otro estudio similar incluye a la cromatografía a contracorriente de alta velocidad (HSCC), la cual también se usa para la extracción y purificación de flavonoides usando un sistema de solvente de dos fases con flujo paralelo en direcciones opuestas. Además, la HSCC también ha realizado varios tipos de procesos de elución en gradiente; por lo tanto, puede usarse no solo para la eliminación de impurezas en extractos crudos, sino también para la purificación de productos finales. Además, se pueden obtener algunos compuestos puros incluso a partir de extractos crudos sin pretratamiento de las muestras (Duo-Long et al., 2011).

1.3.3. Cromatografía de Papel Bidimensional

Este es un procedimiento en el que todos o algunos de los componentes de la muestra, separados, se someten a pasos de separación adicionales. Esto se puede hacer, por ejemplo, enviando una fracción específica eludida de una columna a otra columna con diferentes propiedades de separación. Cuando se combinan varios pasos de separación adicionales se denomina cromatografía multidimensional.



El término cromatografía se remonta al botánico ruso Mikhael Semenovitch Tswett, quien, en 1906, lo utilizó para describir el proceso empleado para separar los pigmentos de las hojas de las plantas. Añadió extracto de estas hojas en éter de petróleo a columnas de vidrio que contenían carbonato cálcico en polvo. La separación se observaba por las diferentes coloraciones que aparecían en la columna. Así, el término “cromatografía” deriva del griego *chrom* (color) y *graphe* (escribir), aunque Tswett indicó que el método no depende del color, solo facilitar la visualización de las fracciones separadas (Oliveira y Silva, 2017).

De igual forma, Martins et al. (2020) comentan que la cromatografía de papel (CP) es una técnica físico-química de separación de mezclas ampliamente utilizada en laboratorios para la identificación de compuestos orgánicos e inorgánicos. Esta técnica consiste en separar los componentes de una muestra debido al desplazamiento diferencial de solutos que son arrastrados por una fase móvil, siendo selectivamente retenidos por una fase estacionaria líquida, la cual es agua, generalmente.

La cromatografía es una técnica ampliamente utilizada en todas las ramas de la ciencia para separar, identificar y determinar componentes químicos en mezclas complejas, e incluye métodos de separación basados en las propiedades físicas de determinados materiales que interactúan con sustancias o mezclas de estas. Teniendo en cuenta sus propiedades químicas, permiten separar y analizar la composición de la mezcla. A medida que la tecnología ha evolucionado, las técnicas cromatográficas se han diversificado y mejorado su capacidad para resolver mezclas de diferentes propiedades (Sgariglia et al., 2010).

1.3.4. Cromatografía de Capa Fina

Es ideal cuando se trabaja con un pequeño número de especies o se realizan pequeñas reacciones. Esta tecnología puede incluso rastrear el proceso de reacción. La herramienta se basa en el principio de adsorción entre dos fases, donde la separación se realiza



según el coeficiente de distribución de las moléculas de la muestra. La TLC (Thin Layer Chromatography) puede determinar la pureza de los compuestos, identificar y comparar analitos y monitorear reacciones, razón por la cual se usa ampliamente. En la actualidad, la técnica es fácil de entender e implementar, puede lograr la separación en poco tiempo, es versátil y de bajo costo. Aunque este método es uno de los más útiles en el análisis químico cualitativo, algunos investigadores lo consideran obsoleto, por lo que a menudo se subestima su utilidad (Vallejo-Rosero et al., 2021).

La TLC es un método importante en química y bioquímica para la separación y el análisis de diversas mezclas moleculares, y puede utilizarse para separar iones inorgánicos, moléculas orgánicas y mezclas de compuestos bioorgánicos como pigmentos, lípidos, aminoácidos, nucleótidos y azúcares. Las placas de TLC suelen constar de una capa de 0,1 mm de material adsorbente adherida a una capa o soporte de plástico. El adsorbente consta de muchas placas microscópicas. Estas superficies proporcionan una gran área para la separación cromatográfica. Después de aplicar una pequeña cantidad de solución de muestra a la superficie del sorbente y dejar que se seque, se coloca la placa en un vaso de precipitados que contenga el solvente apropiado. Solo el borde de la placa más cercano a la muestra está en contacto con el solvente, el cual se inyecta en el material adsorbente seco y sube por la placa llena de muestra. La movilidad de los componentes de la muestra en el adsorbente depende de su estructura química.

La cromatografía en capa fina tiene varias ventajas sobre otros métodos de cromatografía (columna, papel, fase gaseosa...), porque requiere instrumentos más sencillos. Se necesita mucho menos tiempo para lograr la separación, que suele ser mejor. Se pueden usar reveladores agresivos que pueden destruir cromatogramas en papel. El método es simple y los resultados son fácilmente reproducibles, lo que lo convierte en un método adecuado para fines analíticos.



En otra definición y uso de la técnica, Quiroga (2013) menciona que la cromatografía en capa fina (TLC) es una forma de cromatografía de adsorción en la que la fase móvil se guía por capilaridad a través de una fase estacionaria (adsorbente) que actúa como una capa fina uniforme sobre un sustrato inerte (vidrio, plástico o el papel de aluminio). La TLC puede considerarse como una cromatografía de lecho abierto, donde el mecanismo de separación suele basarse en el proceso de adsorción, pero también puede ocurrir un proceso de descomposición o una combinación de ambos efectos, dependiendo del tipo específico de adsorbente, su preparación y uso. Por ejemplo, si la fase móvil contiene agua, metanol u otros solventes altamente polares, este líquido puede adsorberse de la fase móvil que avanza, convirtiendo la adsorción en un sistema de cromatografía de partición.

1.3.5. Cromatografía de Columna

Esto implica realizar la técnica en una columna adsorbente, lo que facilita el proceso. Los compuestos que pasan por la columna se lavan completamente y se separan en diferentes matraces. El adsorbente utilizado puede ser alúmina o gel de sílice (Alvarado, s.f).

La cromatografía en columna es un método de separación de mezclas basado en la adsorción. En esta técnica, la mezcla a separar se inyecta por la parte superior de la columna y el eluyente (es decir, el disolvente) se introduce por la parte inferior. Los componentes de las columnas de escultura y la mezcla están separados por la interacción adsorbente en la columna de cromatografía. Los componentes de la mezcla se mueven en el espectro de color a diferentes velocidades, las cuales son las que permiten que la mezcla se separe en sus diferentes componentes.

En suma, la cromatografía en columna se basa en la interacción de los componentes de la mezcla y el adsorbente (la sustancia que se encuentra en la columna). Los componentes de la mezcla se adsorben en la superficie del adsorbente en función de su interacción



química. El fenómeno de que un determinado componente de la mezcla permanezca en la superficie del adsorbente se denomina adsorción.

En relación con lo anterior, se conoce a la adsorción como una interacción química en la que los átomos o moléculas de una sustancia se adhieren a la superficie de otra sustancia. El adsorbente se selecciona con base en su interacción química con los componentes de la mezcla. Por ejemplo, si se va a separar una mezcla de compuestos orgánicos, se puede usar un adsorbente como el dióxido de carbono. La interacción química entre el adsorbente y los componentes de la mezcla es débil, por lo que los componentes de la mezcla se desorben fácilmente del adsorbente.

La desorción es el proceso por el cual se liberan átomos o moléculas de la superficie de una sustancia (proceso en el que se libera una sustancia preadsorbida de la superficie). Generalmente, la desorción ocurre cuando una molécula dada gana suficiente energía para superar la energía limitante que previamente le permitía unirse a la superficie.

1.3.6. Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS)

En el estudio de Luna et al. (2022), se argumenta que los flavonoides son un grupo importante dentro de los compuestos polifenólicos derivados del metabolismo secundario de las plantas, son marcadores químicos y farmacológicos de gran 1.4. radiación incidente. La eficiencia con la que una molécula absorbe energía a una determinada longitud de onda depende de la estructura atómica y de diversas condiciones ambientales (temperatura, pH, fuerza iónica, etc) (Camelino et al., 2018).

1.4. Funciones y propiedades

Los flavonoides son sólidos cristalinos de color blanco o amarillo pálido. Sus heteroglucósidos son solubles en agua caliente, alcohol y disolventes orgánicos polares, pero insolubles en



disolventes no polares. Sin embargo, en estado libre son poco solubles en agua, pero más o menos solubles en disolventes orgánicos oxigenados según su polaridad.

Por otro lado, son sustancias fácilmente oxidables y por tanto tienen un efecto antioxidante porque se oxidan más rápido que otro tipo de sustancias. Además, un estudio señaló que estas sustancias interfieren con la agregación plaquetaria y, por lo tanto, tienen un efecto antitrombótico potencialmente beneficioso. A su vez, también previenen la oxidación de lipoproteínas, como el colesterol, y así reducen la aterosclerosis (López Luengo, 2002).

El mecanismo de acción y las posibles moléculas diana de los flavonoides han sido objeto de investigación biomédica. Pueden estar involucrados en la expresión de proteínas y su función, ya que regulan la actividad catalítica de varios tipos diferentes de enzimas. Los efectos inhibidores de los diferentes flavonoides varían mucho, ya que la misma molécula puede requerir concentraciones muy bajas para inhibir una enzima, pero concentraciones altas para actuar sobre otra enzima (Álvarez Castro y Orallo Cambeiro, 2003).

Farmacológicamente, los flavonoides son conocidos por su baja toxicidad y generalmente tienen efectos de vitamina P en los vasos sanguíneos (protección de las paredes de los vasos sanguíneos debido a la reducción de la permeabilidad y al aumento de la resistencia capilar). También tienen efectos antioxidantes, pueden inhibir la peroxidación de lípidos, tienen efectos antimutagénicos y la capacidad de inhibir varias enzimas.

El efecto antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su capacidad para reducir los radicales libres y quelar metales, evitando que los radicales libres catalicen reacciones. También actúan inhibiendo los sistemas enzimáticos relacionados con la función vascular, como: la catecol O-metiltransferasa (COMT), que aumenta la duración de acción de las catecolaminas que afectan la resistencia vascular; histidina descarboxilasa,



que afecta la acción de la histamina; fosfodiesterasas, por lo que inhiben la agregación y adhesión plaquetaria (López Luengo, 2002).

El creciente interés en los flavonoides está relacionado con su amplia gama de actividades farmacológicas, y se han descrito efectos protectores en diversas condiciones patológicas, como isquemia cardiovascular, diabetes, aterosclerosis y cáncer. Incluso, los flavonoides se han propuesto como una terapia alternativa para las enfermedades neurodegenerativas debido a sus efectos beneficiosos por su capacidad para modular la actividad neuronal y prevenir la neurodegeneración.

Además, se ha demostrado que el consumo de flavonoides mejora los procesos cognitivos, posiblemente al proteger las neuronas propensas a la muerte y al mejorar la función neuronal existente. Dada la importancia recientemente descubierta de los flavonoides, se han utilizado para tratar la degeneración neuronal en condiciones como la enfermedad de Alzheimer (EA) y la enfermedad de Parkinson (EP) (Limón et al., 2010).

Para Duarte y Pérez-Vizcaíno (2015), los flavonoides desempeñan un rol beneficioso y provechoso en la prevención de varias enfermedades, incluyendo el cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas. La evidencia que se ha venido exponiendo gracias al reciente interés de estos compuestos respalda el papel benefactor de los flavonoles en la enfermedad cardiovascular y los posibles objetivos moleculares relacionados.

En otros estudios e investigaciones se ha visto cómo los flavonoides son compuestos fenólicos incluidos en la dieta humana básica, caracterizados por diversas actividades como agentes antioxidantes, antiinflamatorios y antivirales, y tienen efectos protectores contra enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas enfermedades como las protozoarias ya que los flavonoides son una gran fuente para encontrar nuevos candidatos a fármacos



protozoarios que sean más efectivos y menos tóxicos que los que se usan actualmente para el tratamiento (Ramírez et al., 2010).

1.5. Localización en los alimentos

Las propiedades antioxidantes de los flavonoles los convierten en uno de los subgrupos de flavonoides más analizados, estudiados e investigados. Estos fitoquímicos se encuentran principalmente en vegetales, frutas y bebidas de origen vegetal como el té verde, el té negro y el vino tinto. Las manzanas, las uvas, los tomates, las cebollas, el brócoli y la lechuga roja son fuentes importantes de flavonoles. El pterostilbeno, un flavonoide de arándano, ha demostrado en varios ensayos clínicos que es tan eficaz como el fármaco comercial ciprofibrato (Lipitor) para reducir el colesterol (Duke, 2010).

Entre los diversos flavonoles dietéticos, la quercetina es el flavonol más abundante en los alimentos. Se encuentra en una variedad de frutas y verduras, pero es más alto en las cebollas. Las fuentes dietéticas de quercetina varían de un país a otro según la disponibilidad de alimentos. Por ejemplo, en Japón y los Países Bajos, la principal fuente de quercetina es el té y en Italia, el vino. Las cebollas y las manzanas son las principales fuentes alimenticias de quercetina en Finlandia, Grecia y Estados Unidos. La quercetina se encuentra en las plantas en varias formas de glucósidos, la más común de las cuales es la quercetina-3-ramnoglucósido o rutina.

En los estudios de Duke (2010) se explica que las cebollas proporcionan muchos de los mismos compuestos de azufre que el ajo, pero debido a sus altos niveles de flavonoides, especialmente quercetina, contribuyen aún más a la alimentación. Varios estudios han demostrado que este flavonoide puede reducir la tendencia de las plaquetas de la sangre a pegarse e incluso proteger contra ciertos tipos de cáncer. Hasta el momento, no se ha encontrado ninguna fuente alimenticia de quercetina que sea mejor que la piel de cebolla.



Cuando se usan con vegetales, tienen un efecto antimicrobiano, ya que destruyen virus, bacterias y patógenos microscópicos. Además, diversos estudios demuestran que tienen propiedades que reducen el riesgo de enfermedades del corazón, razón por la cual se consideran metabolitos saludables. Otro de los beneficios de los flavonoides es su efecto anticancerígeno, muy valorado en medicina por sus propiedades que previenen la formación de tumores malignos (Hernández Guiance et al., 2019).

Se ha demostrado que los flavonoides que se encuentran en los extractos de frutas cítricas inhiben el crecimiento de un gran grupo de células microbianas infecciosas, lo que hace que estos compuestos sean útiles como agentes antivirales, antifúngicos y antibacterianos. Los flavonoides que se encuentran principalmente en varios cítricos incluyen hesperetina, hesperidina, luteolina, naringenina, naringina, naringina, neoheperidina, nobiletina y tangeretina (Damián-Reyna et al., 2016).

Tabla 1

Flavonoides comunes, su fuente frecuente y subclase

Flavonoide	Subclase	Fuente Común
Apigenina	Flavona	Cerveza, Aceite De Oliva, Hierbas
(+)-Catequina	Flavanol	Té Verde, Vino, Bayas, Manzanas, Plátanos, Cacao, Cerveza,
Crisina	Flavona	Mburucuyá
Cianidina	Antocianidinas	Uvas, Cerezas, Manzanas, Ciruelas
Cianidina-3-Glucósido	Antocianina	Bayas, Aceituna, Naranja, Granada, Vino
Cianidina-3-Rutinósido	Antocianina	Bayas, Cereza, Oliva
Delfinidina	Antocianidinas	Flores
Delphinidin-3-Glucósido	Antocianina	Bayas, Granada, Vino
(-)-Epicatequina	Flavanol	Cacao, Cerveza, Té, Vino, Bayas, Manzanas, Plátanos
Galato De Epigallocatequina	Flavanol	Té Verde
Hesperidina	Glucósido de Flavanona	Naranja, Pomelo, Limón, Menta
Kaempferol	Flavonoles	Bayas, Alcaparras, Comino, Clavo, Vino
Luteolina	Flavona	Orégano, Alcachofa, Oliva, Salvia, Tomillo
Morín	Flavonoles	Fresa



Flavonoide	Subclase	Fuente Común
Miricetina	Flavonoles	Cerveza, Vino, Grosella Negra
Naringenina	Flavanona	Orégano, Almendra, Pomelo, Vino
Naringina	Glucósido de Flavanona	Romero, Pomelo, Naranja, Vino
Peonidina	Antocianidinas	Frijol Negro
Pinocembrina	Flavanona	Orégano
Quercetina	Flavonoles	Orégano, Alcaparras, Clavo, Cebolla, Tomate, Cacao, Manzanas, Bayas, Vino
Quercetrina	Glucósido de Flavonol	Bayas, Vino, Aceitunas, Lechuga, Judías Verdes
Sinensetina	Flavona O-Metilada	Naranja
Mandarina	Flavona O-Metilada	Naranja
Tricetina	Flavona	Salvado De Arroz

Nota. Adaptado de Li y Paxton (2013).

Solo una pequeña fracción de los flavonoides ingeridos se absorben intactos, y la tasa y el grado de absorción varían mucho según muchos factores, incluida la estructura de la molécula, la matriz en la que se une y las interacciones con otros componentes; incluso las diferencias individuales entre individuos, como la edad, el sexo y la composición de la microbiota colónica. Después de la ingestión, los flavonoides pasan a través del estómago hacia el intestino delgado, donde tiene lugar la primera etapa del metabolismo. Después de la absorción en las células epiteliales del intestino delgado, los flavonoides experimentan un metabolismo de fase II para formar metabolitos conjugados que ingresan al torrente sanguíneo a través de la vena porta. Sin embargo, solo el 5-10 % de la ingesta total de polifenoles se absorbe en el intestino delgado, mientras que los flavonoides más grandes restantes ingresan al intestino grueso, donde la microbiota colónica puede descomponerlos en metabolitos absorbibles de bajo peso molecular. Una vez en la sangre, los metabolitos son transportados a través del cuerpo, donde actúan sobre los tejidos relevantes o son transportados al hígado para su posterior metabolismo y finalmente eliminados. La amplia variación en la biodisponibilidad de los flavonoides dificulta el estudio de sus efectos in



vivo y puede generar inconsistencias en la literatura (Thilakarathna et al., 2013; Rodríguez-Mateos et al., 2014., Cardona, 2013, como se citó en Rees et al., 2018).

1.6. Farmacocinética

En una definición sencilla y sin entrar en términos médicos ya que no le competen a esta investigación, la farmacocinética puede definirse como aquella rama de la farmacología que estudia las concentraciones de fármacos en el cuerpo a lo largo del tiempo y desarrolla modelos para interpretar estos datos para estimar o predecir los efectos terapéuticos o tóxicos de los fármacos (Tébar, 2013).

En consecuencia, a lo anterior y según todo lo que se ha mencionado, puede decirse que los flavonoides son una de las familias más interesantes de compuestos naturales. Su amplia gama de actividades biológicas y su abundancia en la dieta humana los hacen dignos de atención para estudios farmacológicos. Actualmente, las áreas más estudiadas de los flavonoides son las enfermedades cardiovasculares y el cáncer, dos grandes problemas de salud en el mundo occidental (Álvarez Castro y Orallo Cambeiro, 2003).

Además, en otras investigaciones como la de Escamilla Jiménez et al. (2009), se explica que los flavonoides son compuestos no lipofílicos, y la presencia de grupos fenólicos (sulfatos y conjugados glicosilados) facilita su eliminación. En complemento, Duarte y Pérez-Vizcaíno (2015) dicen que los flavonoides generalmente se toman de la dieta en forma de mezclas complejas de varios compuestos flavonoides y otras sustancias activas. Después de la administración oral, los flavonoides son modificados químicamente por enzimas del huésped y de la microbiota en el tracto gastrointestinal, absorbidos y metabolizados en la pared intestinal, el hígado y los tejidos periféricos. La matriz alimentaria también afecta el metabolismo y la absorción en el tracto gastrointestinal. La mayoría de estas sustancias están presentes en concentraciones por debajo del rango micromolar y no son detectadas por los



métodos analíticos convencionales, por lo que solo unos pocos compuestos han llamado la atención de los científicos. Sin embargo, las bajas concentraciones no necesariamente indican que una sustancia altamente potente carezca de actividad biológica.

1.7. Funciones antioxidantes

Según la definición, los antioxidantes son sustancias que previenen o previenen la sustrato oxidación oxidativa, aunque la concentración es menor que el sustrato. Las células y los órganos humanos tienen antioxidantes y pueden ser proteínas enzimáticas en lugar de iszimáticas o de unión. Actúan sinérgicamente para neutralizar varias especies reactivas de oxígeno y formar una red antioxidante. Asimismo, la piel está dotada de una red antioxidante protectora de enzimas, que es la más importante y primera barrera contra los radicales libres, como el glutatión peroxidasa, el superóxido dismutasa y la catalasa; además, contiene antioxidantes no enzimáticos de bajo peso molecular como vitamina E, vitamina C, glutatión, ácido úrico y carotenoides. En general, la epidermis tiene una mayor concentración de antioxidantes que la dermis y por tanto tiene una mayor capacidad antioxidante. Como dato curioso, las concentraciones de antioxidantes fueron más altas en las capas más profundas de la epidermis; esto podría explicarse por una mayor presión parcial de O₂ en las capas superficiales, lo que induce estrés oxidativo y conduce al agotamiento de antioxidantes (Mariaca et al., 2016).

Según Ciappini et al. (2013), la capacidad antioxidante de los alimentos ha atraído mucho interés. Los extractos con capacidad antioxidante ya se comercializan como ingredientes alimentarios, y algunos productos alimentarios comercializados anuncian esta propiedad como un beneficio esencial para proteger la salud o prolongar la vida útil del producto.

Sus propiedades biológicas, que han recibido mayor atención, son sus efectos antioxidantes que han sido objeto de numerosos estudios, principalmente en estudios clínicos y



nutricionales, considerando las dosis farmacológicas de antioxidantes dietéticos que por lo general son recomendadas a nivel mundial, ya que al parecer poseen combinaciones de vitaminas (E, C y betacaroteno), que no son dañinas ni perjudiciales, por lo que es mejor que la alimentación de la persona contengan una mezcla de flavonoides y taninos para un mejor efecto antioxidante (Pérez Trueba, 2003).

Los flavonoides son un ejemplo de compuestos antioxidantes naturales ampliamente distribuidos en los alimentos vegetales que se encuentran en la dieta humana normal. La evidencia epidemiológica sugiere que los flavonoides de la dieta pueden ejercer efectos protectores contra las enfermedades cardiovasculares como el ataque cardíaco o el accidente cerebrovascular a través de mecanismos antiateroscleróticos, antioxidantes, antiplaquetarios, vasodilatadores e hipotensores. Una de las mayores fuentes dietéticas de flavonoides en la población mundial es el té, que contiene principalmente catequinas, un tipo especial de flavonoides (De Luis y Aller, 2008).

La capacidad de combatir la enfermedad de Alzheimer en varios frentes simultáneamente se basa en tres propiedades diferentes de los compuestos flavonoides. Inhiben la actividad de la enzima AChE, que es responsable de reducir los niveles de acetilcolina en el cerebro. También tienen una importante actividad antioxidante que previene la exacerbación del daño oxidativo. Además, inhiben un proceso químico llamado glicosilación, que promueve los cambios que ocurren cuando las proteínas se unen para formar placas de beta-amiloide (Elsevier, s.f).

Los flavonoides pueden influir en varios sistemas enzimáticos y funciones biológicas en los mamíferos. La capacidad antioxidante es la más estudiada de sus funciones biológicas. Sin embargo, muchos flavonoides también exhiben efectos antitrombóticos, inhibición de



la activación de leucocitos e incluso actividad vasodilatadora y, por lo tanto, tienen efectos anticardiovasculares potenciales.

Otros flavonoides (especialmente isoflavonas) obtenidos de plantas tradicionalmente utilizadas como plantas medicinales han mostrado actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral contra especies resistentes a antibióticos y contra la infección por *Helicobacter pylori*. Finalmente, también se les atribuyen posibles propiedades antialérgicas y protectoras de los vasos sanguíneos y del hígado, así como efectos sobre los ojos y enfermedades neurodegenerativas. También cabe mencionar la posible relación entre la ingesta de flavonoides y la prevención y desarrollo de ciertos tipos de cáncer, especialmente el de pulmón (Cabrera y Mach, 2012).

Figura 4

Flavonoides en los alimentos



Nota. Adaptado de Freepik (Freepik, s.f)



1.7.1. Determinación del efecto antioxidante

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de sus propiedades quelantes del hierro y de eliminación de radicales libres, así como de su inhibición de las enzimas oxidativas: lipoxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y xantina oxidasa; Así, evita la formación de oxígeno activo e hidroxiperóxidos orgánicos. Además, se ha demostrado que inhiben enzimas indirectamente implicadas en los procesos de oxidación, como la fosfolipasa A2; mientras estimula a otros con propiedades antioxidantes reconocidas como la catalasa y el superóxido dismutasa (Escamilla Jiménez et al., 2009).

En el espectro de los antioxidantes, los polifenoles son flavonoides destacados que han demostrado tener actividad antioxidante capaz de inhibir la formación de radicales libres, como los grupos superóxido e hidroxilo, conocidos como especies reactivas de oxígeno (ROS), capaces de causar daño celular. desencadenando diversas enfermedades crónico-degenerativas. Se han estudiado varios alimentos, como los arándanos, el vino tinto, el té verde y el cacao, por sus propiedades antioxidantes y su asociación con la protección contra estas enfermedades. Esto se concluyó debido al alto contenido de compuestos fenólicos, y la mayoría de los autores concluyeron que las dietas ricas en polifenoles reducen significativamente el riesgo de enfermedades crónico degenerativas (González-Jiménez et al., 2015).

En los últimos años, numerosos estudios han confirmado los efectos beneficiosos de la ingesta de polifenoles sobre la salud, especialmente sobre el sistema cardiovascular. Esto es importante porque la enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte en todo el mundo. El efecto de los polifenoles se debe principalmente a sus propiedades antioxidantes. Estos compuestos tienen un efecto vasodilatador y además mejoran el perfil lipídico y reducen la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Tienen un



efecto antiinflamatorio pronunciado y, a su vez, estos compuestos pueden modular el proceso apoptótico de las células endoteliales vasculares (Quiñones et al., 2013).

1.8. Mecanismos prooxidantes

Un prooxidante es una “sustancia que puede producir subproductos del oxígeno del metabolismo que pueden dañar las células” (Instituto Nacional del Cáncer, s.f). Los prooxidantes se definen como sustancias químicas que causan estrés oxidativo, generalmente mediante la producción de especies reactivas o mediante la inhibición de los sistemas antioxidantes. Los radicales libres se consideran prooxidantes, aunque sorprendentemente, los antioxidantes también pueden ser prooxidantes dependiendo de su concentración y la naturaleza de las moléculas vecinas (Villanueva y Kross, 2012).

Aunque los efectos antioxidantes de los flavonoides están ampliamente documentados, existen muchos estudios que reportan su actividad prooxidativa, que parece depender de su concentración y es proporcional al número total de grupos OH en la molécula, especialmente en el anillo B (Perron et al., 2011).



CAPÍTULO II

FLAVONOIDES DE VIGUIERA PROCUMBENS (PERSOON) S.F. BLAKE

En los últimos años se ha incrementado la investigación y el uso de productos naturales, especialmente herbarios, como agentes terapéuticos. Aunque las plantas son una fuente de nuevos compuestos bioactivos, solo se ha investigado una pequeña cantidad de fitoquímicos por su potencial terapéutico. El género consiste en hierbas, arbustos o plantas leñosas. Sus hojas son todas opuestas o hojas superiores alternas, enteras a lobuladas. La cabeza es simple y cónica. Involucro campanulado a cilíndrico, sus brácteas recurvadas o estrechadas a brácteas externas más cortas, aplanadas en un receptáculo cónico con flores pálidas alrededor del disco. Las flores de los rayos suelen ser estériles, de corola amarilla, blanca o morada. Flores de disco hermafroditas, con pétalos amarillos o morados, tubulares, con puntas de flecha en la base de los estambres, ramificaciones lineales, con apéndices agudos o puntiagudos.

Como dato general, la flora del Perú consiste principalmente en una diversa y muy aislada de hierbas y arbustos, que aún tiene mucho por descubrir sobre esta especie. Esta flora peruana no solo es rica en especies, sino que muchas de ellas son endémicas. En este



sentido, la floristería es importante para determinar el número de especies de plantas en un área geográfica determinada, el número estimado de ejemplares presentes e información básica para estudios taxonómicos, ecológicos, ambientales y de conservación para un uso racional (De la Cruz-Arango, 2020).

2.1. Taxonomía

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Tribu: Heliantheae

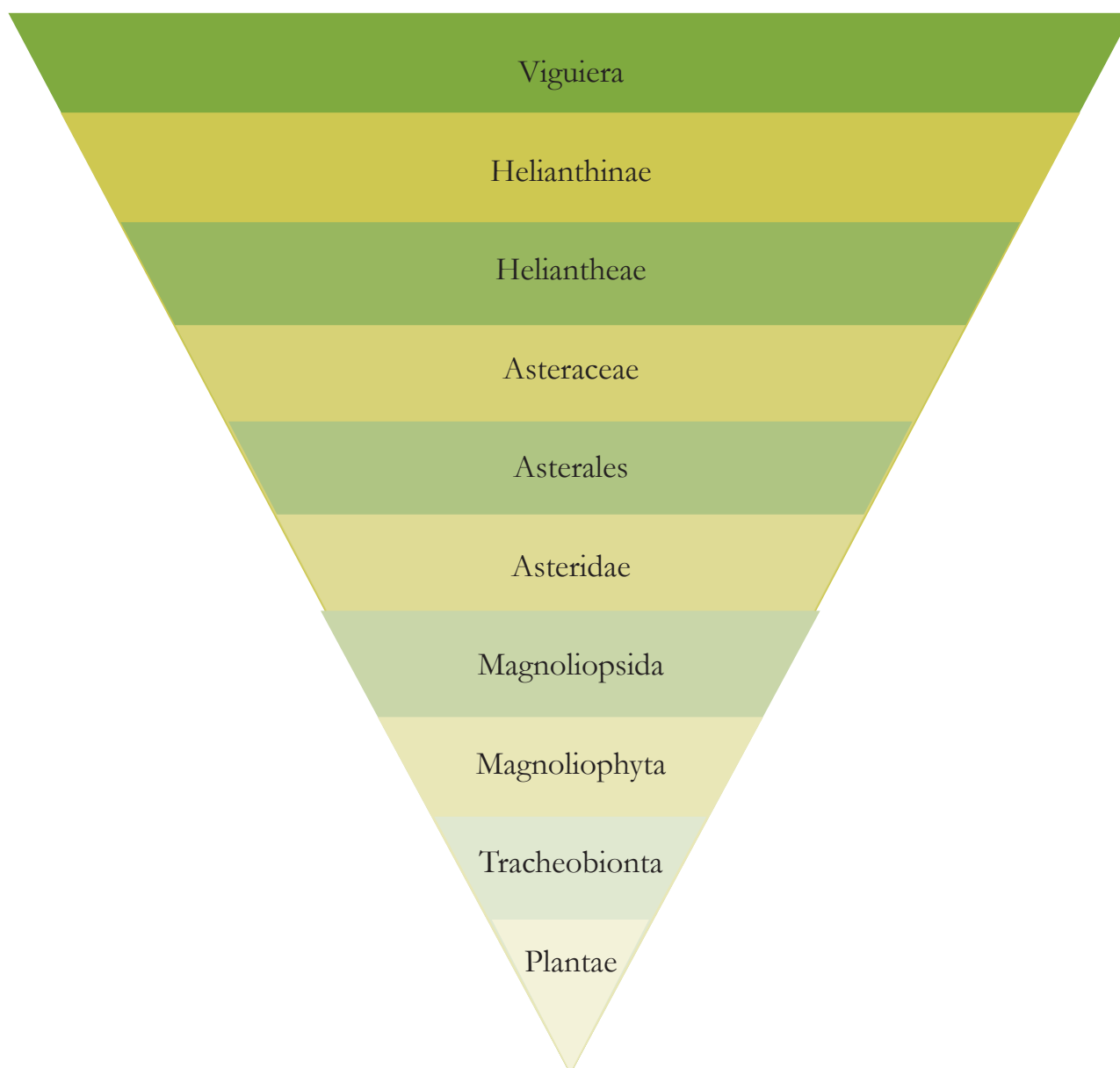
Subtribu: Helianthinae

Género: *Viguiera*



Figura 5

Taxonomía Viguiera procumbens



2.2. Aspectos etnobotánicos

Compositae es una de las familias de plantas más numerosas del mundo, con más de 24 000 especies, y un número estimado de hasta 30 000 especies distribuidas por todo el mundo excepto en la Antártida. Su hábito varía de hierba y arbusto anual a perenne, enredadera o árbol. Esta especie crece en casi todos los tipos de hábitats, desde bosques hasta pastizales de tierras altas, pero son menos comunes en bosques tropicales húmedos y más comunes en áreas abiertas. Los estudios muestran que la familia Asteraceae tiene la



segunda mayor cantidad de especies en el Perú, después de las Orchidaceae, con alrededor de 1655 especies. Muchas especies de esta familia son beneficiosas y dañinas en todo el mundo (Hurtado-Huarcaya et al., 2020).

2.3. Aspectos fitoquímicos

Los fitoquímicos corresponden a metabolitos secundarios sintetizados por plantas, entre ellos terpenos, ácidos fenólico y tiólico, lignanos y flavonoides, de los cuales estos últimos son los que le competen a esta investigación y de los que se han obtenido más resultados cualitativos y cuantitativos. Son responsables de proteger a las plantas contra varios tipos de estrés biótico y abiótico, incluidas infecciones, depredadores, radiación UV, estrés hídrico o salino, y proporcionan color y sabor a frutas y verduras. Se estima que hay miles de fitoquímicos diferentes en la naturaleza, la mayoría de los cuales aún no se han descubierto (Gasaly et al., 2020).

2.4. Aspectos farmacológicos

La planta se usa principalmente para tratar el reumatismo y las enfermedades del mal de tierra (estomatitis vesicular); también se usa para la diarrea, el dolor de cabeza, la fiebre, el sarpullido y la gripe causada por una infección. Las partes utilizadas son las raíces y las hojas. Primero se muelen, algunas se pueden usar directamente como flores, otras se pueden mezclar con agua hervida y luego se escurren y se toman con agua.

Varias pruebas han demostrado que los extractos de estas plantas, así como las lactonas sesquiterpénicas purificadas, tienen propiedades antiinflamatorias. Los macrófagos juegan un papel clave en la regulación de las respuestas inmunitarias, así como en la reparación de tejidos. En respuesta al lipopolisacárido (LPS), los macrófagos liberan citocinas proinflamatorias y radicales libres o especies reactivas de oxígeno (ROS), como el anión



superóxido. Se ha propuesto que el estrés oxidativo causado por ROS es uno de los principales efectos nocivos de LPS (Dupuy et al., 2008).

2.5. Aspectos toxicológicos

Muchas especies utilizadas en la medicina tradicional pueden causar efectos secundarios, pero se sabe poco sobre la toxicología médica de Labiatae, estas especies parecen ser muy beneficiosas y cuando se usan regularmente pueden tener propiedades toxicológicas muy fuertes, incluso causando la muerte (Moreno, 2002).

Los autores Valério et al. (2007) señalan que la actividad antiinflamatoria de algunas plantas está relacionada con su contenido de lactona sesquiterpénica. Investigaron la actividad antiinflamatoria y antinociceptiva de la buteína A, una lactona sesquiterpénica murina aislada de *Viguiera robusta*, y concluyeron que es antiinflamatoria y antinociceptiva a través de un mecanismo dependiente de la inhibición activa de la producción de citoquinas.

Por otra parte, respecto a la familia de la planta, Arakawa et al. (2013) demostraron que la budleína A de lactona sesquiterpénica, un componente principal de la planta similar al girasol *Viguiera robusta* (Asteraceae), tiene importantes efectos biológicos, incluida una potente actividad citotóxica contra las células tumorales humanas y efectos antiinflamatorios en el cuerpo. Sin embargo, a veces este tipo de compuestos son tóxicos debido a la insaturación del sistema de anillos de lactona.

2.6. Aspectos botánicos

Hay que recordar que la parte botánica es entendida como el campo de la biología que estudia los vegetales, es una disciplina que combina los conocimientos adquiridos durante su larga tradición con avances que se producen a diario, consiguiendo ser una ciencia de plena vigencia, socialmente necesaria y con múltiples campos de actuación y desarrollo.



Son plantas anuales o perennes, algunos arbustos y pequeños árboles o enredaderas, y se distribuyen por todo el mundo. Las hojas son en su mayoría alternas, pero a menudo opuestas o verticiladas, simples o compuestas, y varían mucho en forma, tamaño y disposición, incluso superpuestas, como en la lechuga, o en rosetas abiertas, como en los dientes de león. Sus flores están estrechamente unidas o cuentan con flores solitarias o actinomorfas o simétricas, ectófitas, perfectas, unisexuales o estériles; sin tiza, o convirtiéndose en ampollas o cerdas escamosas, o pelos suaves, escasos o abundantes; pétalos unicolores, tubulares, estambres opuestos con estambres connatos regulares; o en agua.

Para finalizar y antes de dar pie al capítulo que resume y presenta a rasgos generales la investigación que se realizó además de los avances y las diversas conclusiones y estudios que se hicieron, se hace menester el manifestar que la bibliografía sobre el tema es escasa, casi imposible de encontrar; la *viguiera procumbens* no es tan mencionada en libros y cuando lo hacen esta está atada a demás plantas de su misma familia; sin embargo, esto no detiene el interés, por el contrario, lo aviva para que demás científicos vean en esta rama un espacio de experimentos, experiencias y oportunidades.



CAPÍTULO III

FLAVONOIDES DE VIGUIERA PROCUMBENS (PERSOON) S.F. BLAKE Y SU EFECTO ANTIOXIDANTE

La investigación que vio la luz en el año 2008 parte del deseo de hallar posibles estructuras de los flavonoides y la relación entre estos flavonoides y *Viguiera procumbens* (Persoon) S.F. y la determinación de actividades antioxidantes de extractos crudos de la especie, la cual contribuirá al conocimiento fitoquímico del género *Viguiera*, ya que no se han encontrado en la literatura estudios fitoquímicos de sus flavonoides, por lo que se desconoce la estructura. Asimismo, recientemente no se ha atribuido actividad antioxidante a la actividad antioxidante de estas moléculas. Además, sus propiedades están atrayendo cada vez más la atención debido a su gran capacidad para eliminar intermediarios altamente reactivos (radicales libres) que son dañinos para la salud.

3.1. Objetivo general

Luego de múltiples investigaciones y el establecer cómo emplear estas plantas para conseguir una utilidad práctica y necesaria para la población, se planteó aislar y determinar la probable estructura de los flavonoides, por espectroscopia UV, de la especie *Viguiera*





procumbens (Persoon) S. F. Blake y evaluar el efecto antioxidante de los flavonoides aislados y de sus extractos crudos obtenidos de la parte aérea como el objetivo principal de la investigación en curso.

3.2. Objetivos específicos

- Aislar y purificar flavonoides de la especie *Viguiera procumbens* (Persoon) S.F. Blake, por métodos cromatográficos del extracto con mayor presencia de flavonoides
- Determinar la estructura de los flavonoides por espectroscopia UV, utilizando reacciones de desplazamiento
- Determinar el efecto antioxidante de los flavonoides aislados y de los extractos crudos por métodos de colorimetría basados en la formación de un complejo azul del fósforo-molibdeno (V).

3.3. Hipótesis

Los flavonoides de los extractos de la especie *Viguiera procumbens* (Persoon) S.F. Blake probablemente son flavonas y flavonoles, los que presentan efecto antioxidante al igual que los extractos crudos.

3.4. Tipo y diseño de investigación

El diseño es un plan y una estrategia de investigación destinados a obtener respuestas confiables a las preguntas de investigación. El diseño presenta entonces una serie continua y organizada de actividades que deben adaptarse a las especificidades de cada puesto de trabajo, señalando las actividades y pruebas a realizar, así como los métodos utilizados para la recolección y análisis de datos.



Con base en lo anterior, la investigación presentó un diseño experimental, es decir, estima la relación causal entre una variable y otra variable en un estudio experimental. Por lo tanto, cuando los investigadores usan esta técnica, cambian deliberadamente la variable independiente para cuantificar su efecto sobre la variable dependiente. Si es posible demostrar que un cambio en la variable independiente modifica a la dependiente, entonces la investigación experimental tendrá validez. En el caso concreto de esta investigación, hay que recordar que el objeto a estudiar atravesó diversos experimentos y tratamientos que ya se han explicado con anterioridad. De la misma manera, lo que se presenta durante las próximas páginas son los resultados de cada una de esas pruebas.

Cuando, a través de un experimento, se pretende llegar a la causa de un fenómeno, se somete el objeto de estudio a la influencia de ciertas variables en condiciones controladas por el investigador, proceso que consiste en someter a un objeto o grupo de individuos a determinadas condiciones o estímulos (variable independiente) para observar los efectos que se producen (variable dependiente). Se diferencia de la investigación de campo por la manipulación y control de variables.

Así mismo, la investigación de tipo cuantitativa es quien engloba toda la parte de presentación de resultados.

3.5. Población, muestra y muestreo

Las muestras se recolectaron deliberadamente de plantas aparentemente sanas en ausencia de contaminantes; por ejemplo, insectos, plagas, etc., aproximadamente 8 kg de plantas enteras (hojas, flores y tallos) de la especie *Viguiera procumbens* (*humana*) SF. Las muestras recolectadas se clasifican de todas las impurezas y se dividen en hojas, pétalos, cabezas y tallos; las muestras fraccionadas se secan en un lugar ventilado sin luz solar. Las muestras



secas se molieron sin dejar residuos en un tamiz de malla 40 para obtener una muestra homogénea y un mayor contacto con el solvente durante la extracción.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La recopilación de datos se refiere al enfoque sistemático para recopilar y medir información de una variedad de fuentes para obtener una imagen completa y precisa de un área de interés. La recopilación de datos permitió responder preguntas importantes, evaluar resultados y predecir mejor las probabilidades y tendencias futuras. La precisión de la recopilación de datos es esencial para garantizar la integridad de la investigación, las decisiones comerciales sólidas y la garantía de calidad.

3.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Un experimento es un tipo de investigación en el que una o más variables independientes se manipulan deliberadamente para estudiar sus efectos. Un experimento es un procedimiento riguroso utilizado para probar hipótesis causales mediante la manipulación de variables independientes. La experimentación es uno de los elementos principales del método científico. La experimentación es un método que permite la comprobación empírica de hipótesis causales. Por tanto, los experimentos son el único diseño científico que puede proporcionar explicaciones causales con la mayor fiabilidad y validez.

Antes de pasar al área de resultados, se hará una breve mención del material empleado para la realización de esta investigación:

Hojas, pétalos y cabezuelas de la especie vegetal *Viguiera procumbens* (Persoon) S.F. Blake, colectados durante la primera semana del mes de febrero del 2009, en plena floración, del sector denominado K'allachaca (Salineras) del distrito, provincia y departamento del Cusco a una altura aproximada de 3200 n. s. n. m.



3.7.1. Equipos

- Baño isotérmico PS-THELCO
- Rotavapor HAETING BAYH B-491
- Filtración al vacío
- Destilación fraccionada
- Equipo de Percolación
- Estufa MEMMERT UNE-400

3.7.2. Reactivos

- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido clorhídrico concentrado y al 1 %
- Hidróxido de sodio al 10 % y 1 %
- Ninhidrina al 1 %
- Magnesio metálico
- Amoníaco concentrado
- Tricloruro férrico al 1 %
- Hidróxido de potasio al 5 % y 10 %
- Benceno



- Acetato de cobre (II) al 1 %
- Ácido pícrico al 1 % solución etanólica
- Ácido acético glacial
- Anhídrido acético Q.P.
- Benedict
- Dragendirff
- Mayer
- Molibdato de amonio
- Fosfato ácido de potasio
- Ácido ascórbico Q.P.

3.7.3. Solventes

- Agua destilada
- Cloroformo
- Éter etílico
- Acetato de etilo
- Metanol
- Alcohol Q.P.



- Bencina
- Instrumentos
- Balanza analítica AND GR-200
- Balanza granataria DIAL-O-GRAM OHAUS
- Espectrofotómetro UV-Vis SPECTROPHOTOMETER EVOLUTION 300

3.8. Resultados y Discusión

Debido a la complejidad y a las múltiples divisiones que tuvo este trabajo de investigación, los resultados se tuvieron que presentar en diversas categorías.

3.8.1. Determinación de la humedad:

El porcentaje de humedad en una muestra fresca de *Viguiera procumbens* (Persoon) S. F. Blake es 68,17 % para muestras de hojas, 75,15 % para muestras de pétalos y 67,85 % para muestras de inflorescencias; en la revisión bibliográfica el rango de humedad vegetal es de 65-80 %, y todos los resultados obtenidos se encuentran dentro de este rango.

3.8.2. La obtención de extractos

Para extraer los flavonoides, las muestras de hojas, pétalos y cogollos se desgrasaron primero con benceno para eliminar los lípidos y carotenoides que interferían en la separación, y el extracto se obtuvo después de la diafiltración con etanol al 90 %, etanol al 40 % y purificación con agua, el solvente disuelve los glucósidos o agliconas hidroxiladas y sus porcentajes de extracción se muestran en la Tabla 2.



Tabla 2

Porcentajes de extracción en diferentes solventes

Muestra	Solvente	Extracción (%)	Características	
			Color	Aspecto
Pétalos	Etanol 90 %	4.69 %	Marrón oscuro	Pastoso
	Etanol 40 %	4.30 %	Marrón oscuro	Vidrioso
	H ₂ O	4.00 %	Marrón pardo	Pastoso
Hojas	Etanol 90 %	4.69 %	Verde marrón	Pastoso
	Etanol 40 %	4.69 %	Verde marrón	Vidrioso
	H ₂ O	4.69 %	Verde oscuro	Pastoso
Cabezuela	Etanol 90 %	4.69 %	Marrón pardo	Pastoso
	Etanol 40 %	4.69 %	Marrón pardo	Pastoso
	H ₂ O	4.69 %	Marrón claro	Pastoso

Nota. La tabla muestra que los porcentajes más altos corresponden a los obtenidos a partir de muestras de pétalos que contenían 90 % de etanol, lo cual fue confirmado por el análisis cualitativo de los extractos (Tabla 3), donde se pudo observar la mayor presencia de metabolitos en los extractos como: flavonoides, alcaloides, azúcares reductores, taninos, lactonas, etc.

3.8.3. La Evaluación Fitoquímica

Los resultados del análisis fitoquímico cualitativo de extractos de hoja, pétalo y cabeza de *Viguiera procumbens* (Persoon) S.F. Blake se evidencian en la Tabla 3.

Tabla 3

Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos crudos

Metabolito	Prueba	Extracto								
		Hojas			Pétalos			Cabezuela		
		90 %	40 %	H ₂ O	90 %	40 %	H ₂ O	90 %	40 %	H ₂ O
Azúcares reductores	Benedict	+	--	--	+++	++	--	++	--	--
Glucósidos	Benedict	+	--	--	+++	++	--	++	--	--
Aminoácidos	Ninhidrina	--	--	--	++	+		--	--	--
Flavonoides	Shinoda	+	+++	--	++	+++	--	+	+	--
	UV	++	++	--	+++	++	+	+	+	--
	Vapores de amoníaco	++	++	+	+++	++	+	++	++	+
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico 1 %	++	++	+	+++	++	+	++	++	+
Quinonas	Borntrager	++	++	--	+++	++	--	++	++	--



Metabolito	Prueba	Hojas			Extracto Pétalos			Cabezuela		
		90 %	40 %	H ₂ O	90 %	40 %	H ₂ O	90 %	40 %	H ₂ O
Resinas	Turbidez en agua	+++	++	--	+	--	--	--	--	--
	Acetato de cobre	++	++	+	+	--	--	+	+	--
Alcaloides	Dragendorff	+++	--	--	+++	--	--	--	--	--
	Mayer	+++	--	--	+++	--	--	--	--	--
	Wagner	++	--	--	++	--	--	--	--	--
Taninos	Cloruro férrico 1 %	++	++	--	+++	++	--	++	++	--
Saponinas	Espuma	++	--	--	++	++	--	--	--	--
Lactonas	Bajlet	+	++	--	+++	+++	--	+++	++	--
Triterpenoides y esteroides	Liebermann-Burchard	--	+	--	++	+++	--	--	--	--
	Salkowski	--	+	--	++	+++	--	--	--	--
Cumarinas	NaOH y UV	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Nota. (--) Negativo. (+) Baja proporción. (++) Moderada proporción. (+++) Abundante Proporción.

3.8.4. Aislamiento de los flavonoides

Se aislaron cuatro flavonoides del extracto etanólico al 90 % por presentar una mayor proporción de estos metabolitos.

3.8.5. Identificación de los flavonoides

Del extracto de etanol al 90 % de pétalos, luego de someter a hidrólisis, de la solución ácida por fraccionamiento se purificaron los flavonoides R2.1 y R2.2 y del residuo sólido de la hidrólisis por fraccionamiento se lograron obtener los flavonoides R3.1 y R4.1.

- Se puede determinar la estructura del flavonoide aislado R2.1, a través de su espectro UV y los espectros obtenidos de las reacciones de desplazamiento, las cuales se muestran en las figuras de la 6 a la 11.



Figura 6
Absorción UV del flavonoide R2.1 en metanol

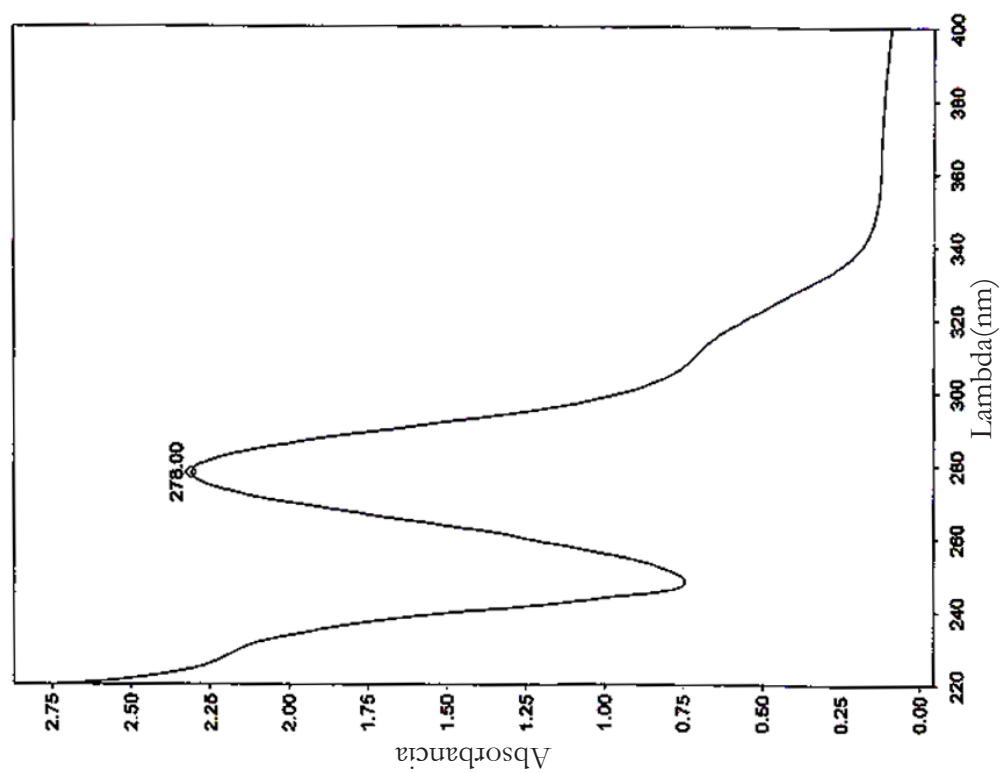


Figura 7
Absorción UV del flavonoide R2.1 en NaOMe

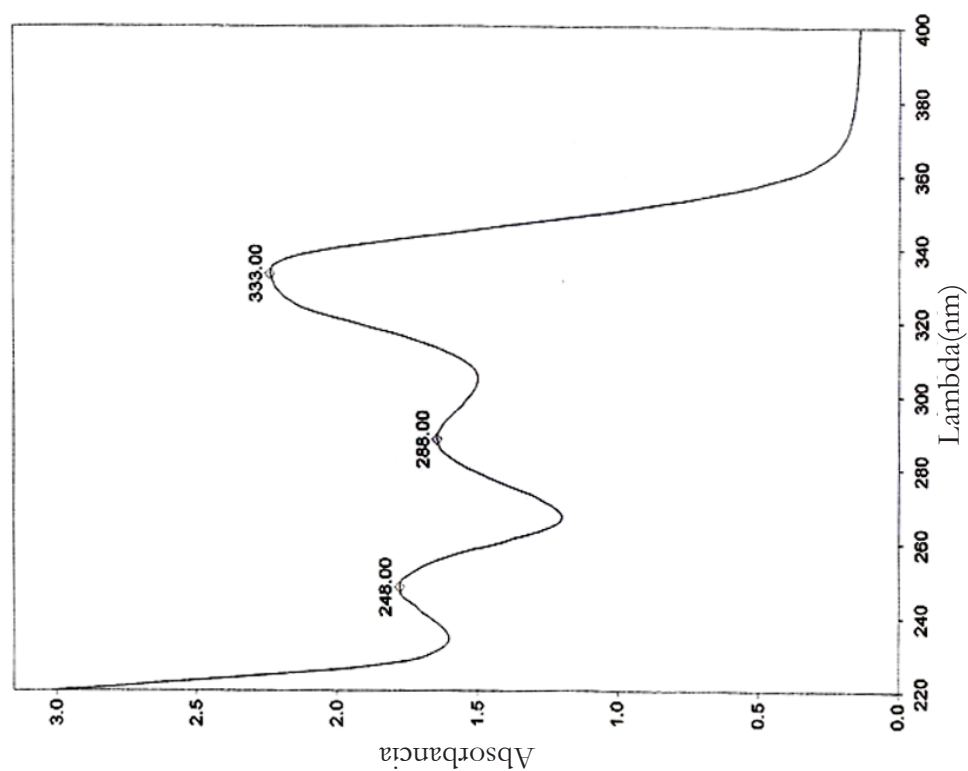




Figura 8

Absorción UV del flavonoide R2.1 en NaOAc

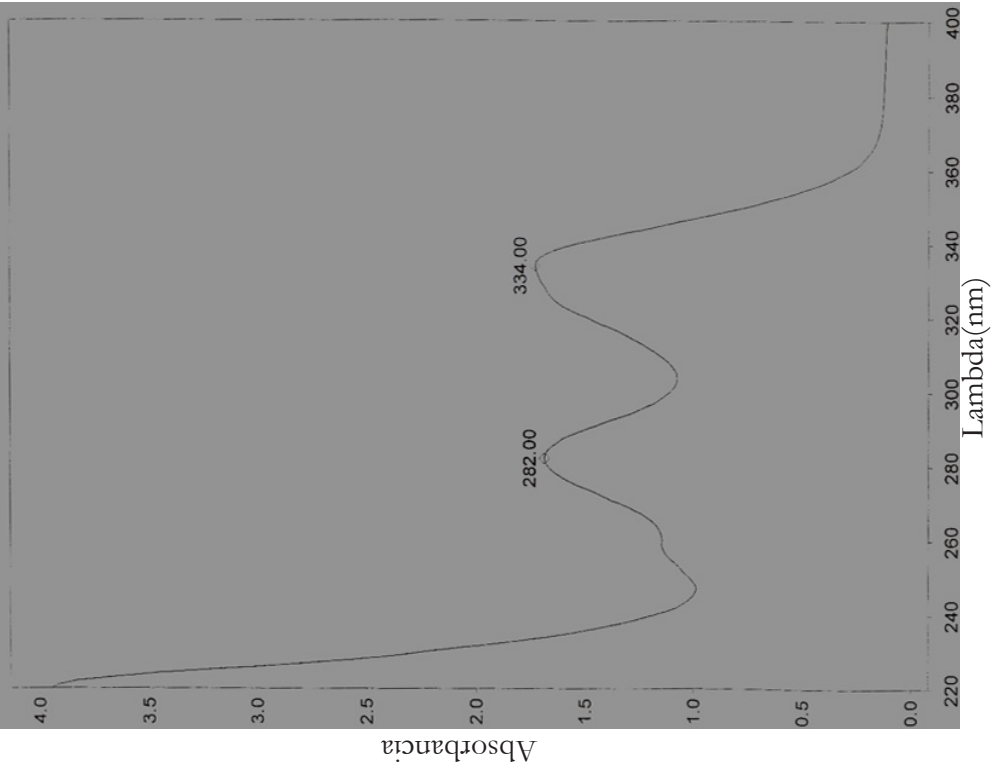


Figura 9

Absorción UV del flavonoide R2.1 en NaOAc/H3BO3

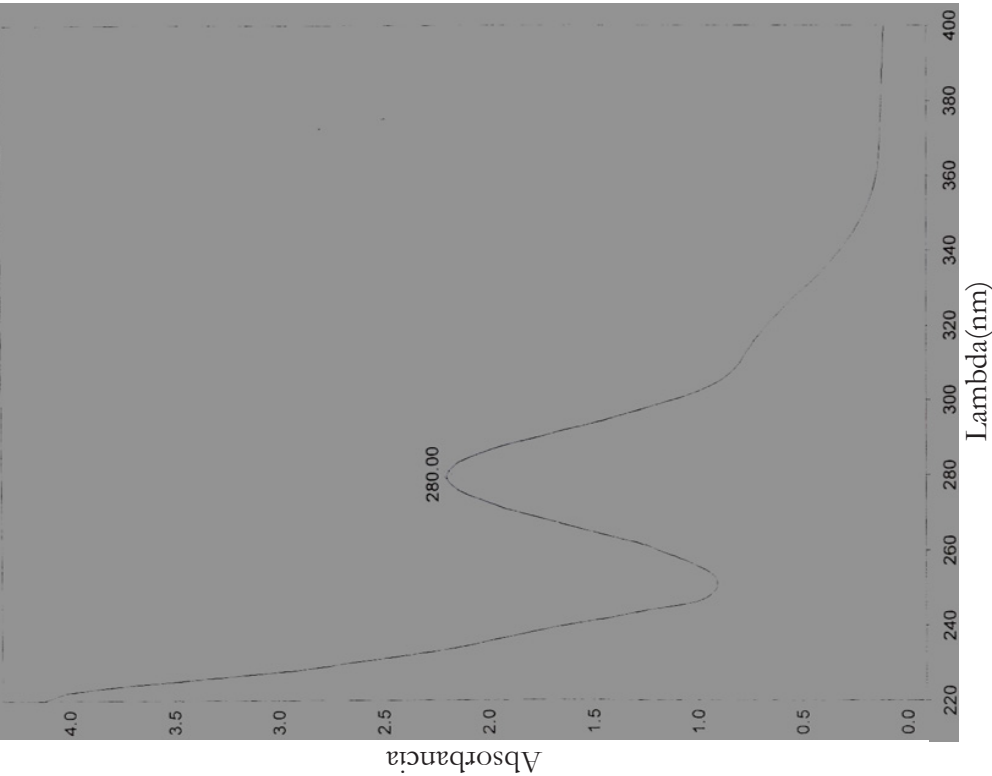




Figura 10

Absorción UV del flavonoide R2.1 en $AlCl_3$

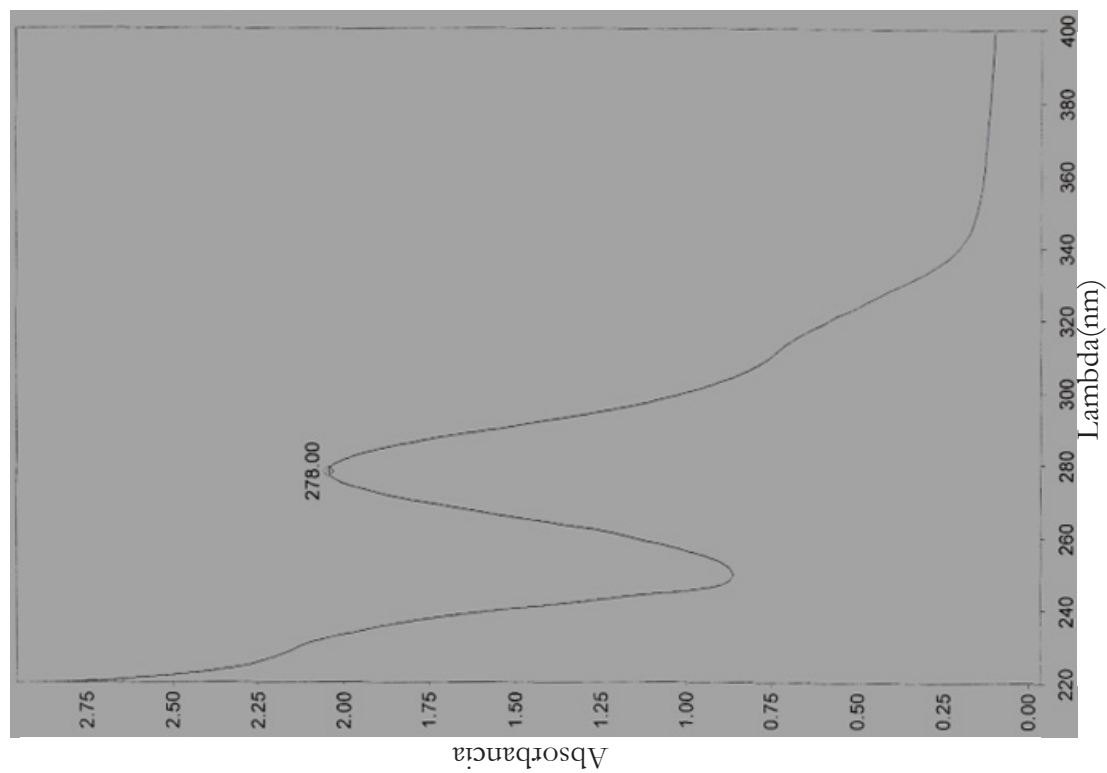
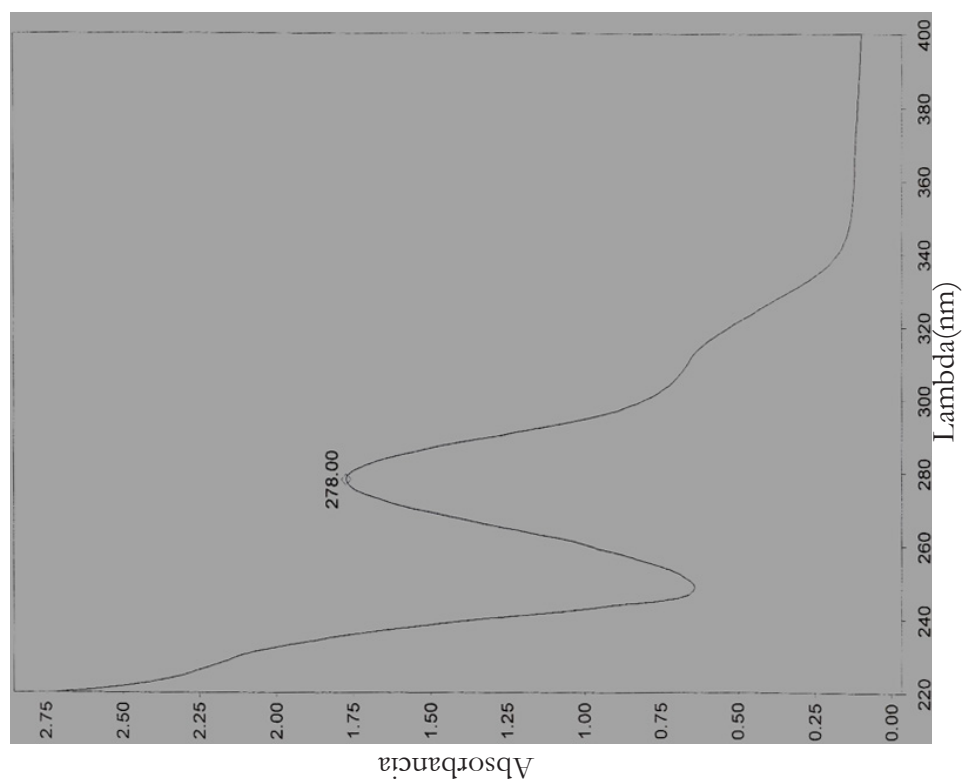


Figura 11

Absorción UV del flavonoide R2.1 en $AlCl_3/HCl$





- Se puede determinar la estructura del flavonoide aislado R2.2, a través de su espectro UV y los espectros obtenidos de las reacciones de desplazamiento, las cuales en las figuras de la 12 a la 17.

Figura 12

Absorción UV del flavonoide R2.2 en metanol

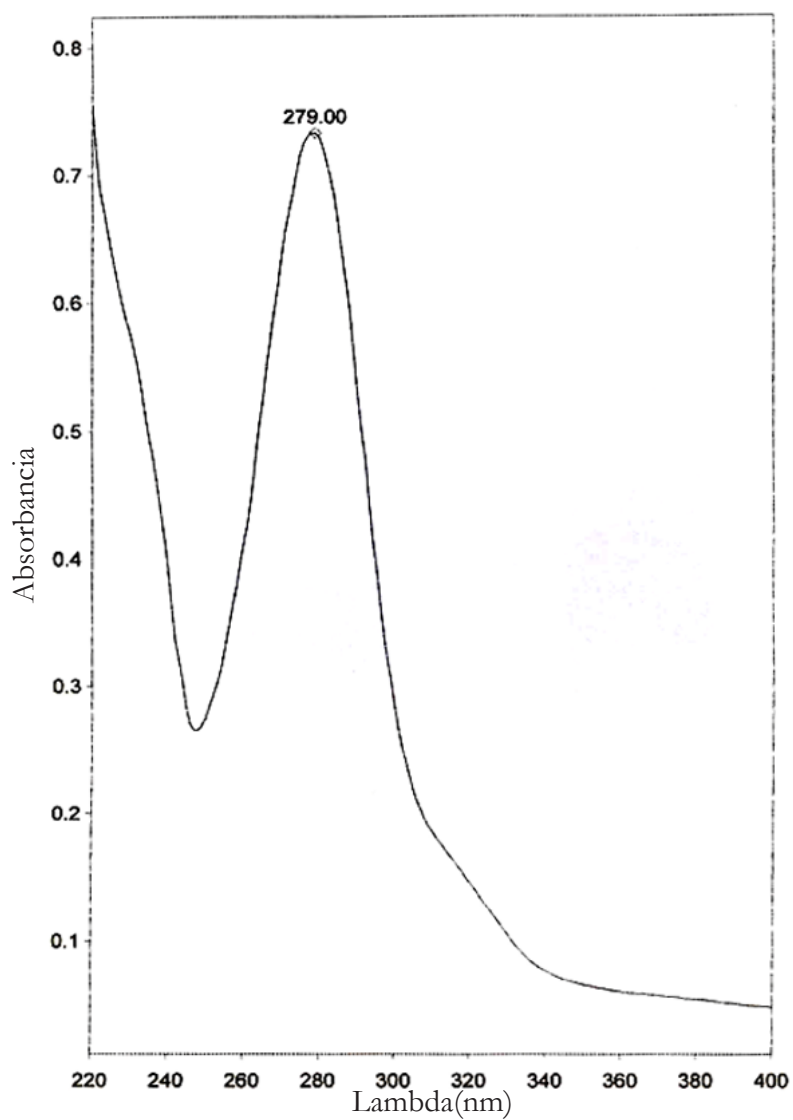




Figura 13

Absorción UV del flavonoide R2.2 en NaOMe

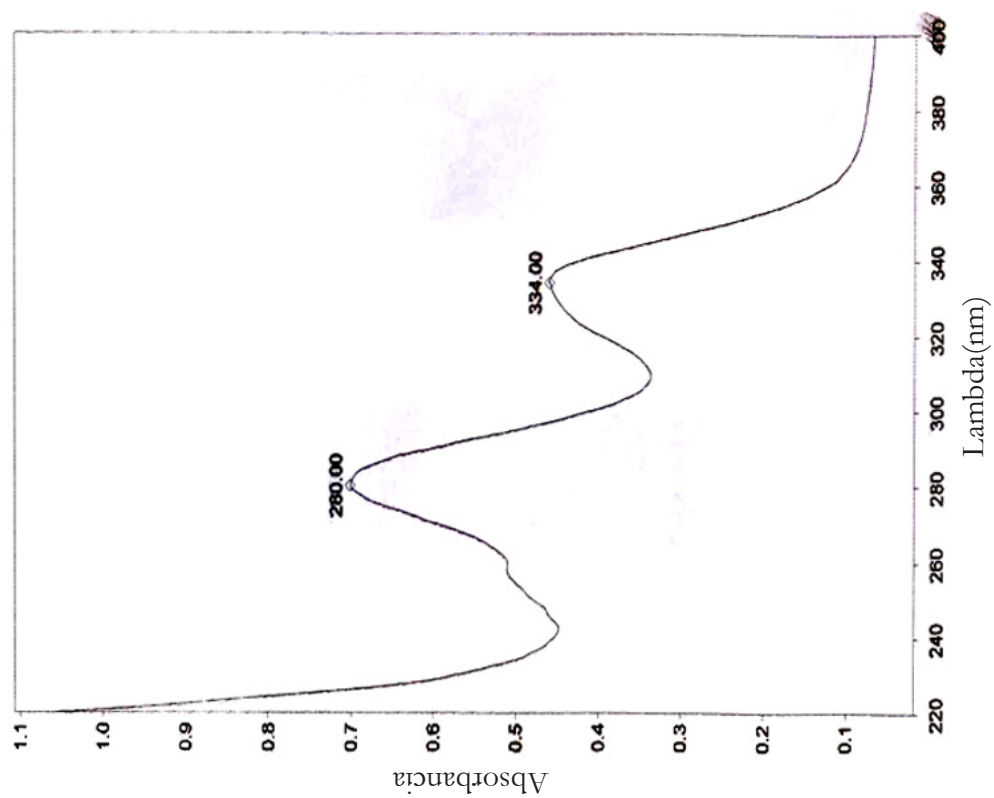


Figura 14

Absorción UV del flavonoide R2.2 en NaOAc

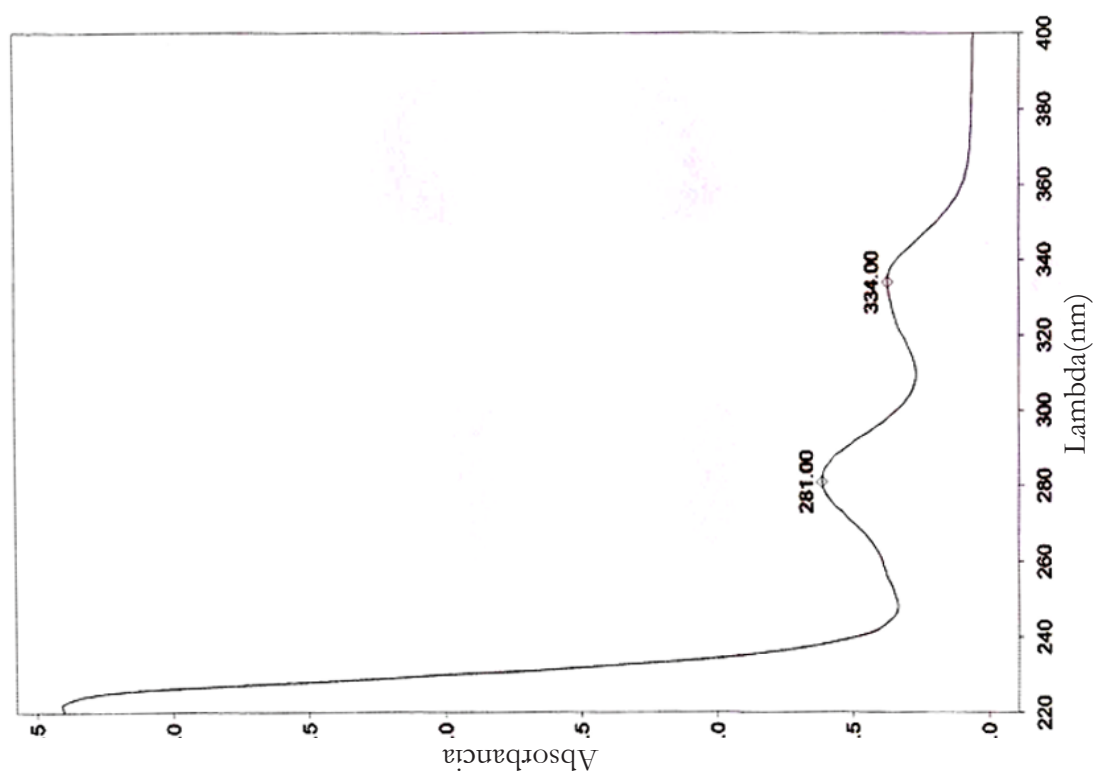




Figura 15
Absorción UV del flavonoide R2.2 en NaOAc/H₃BO₃

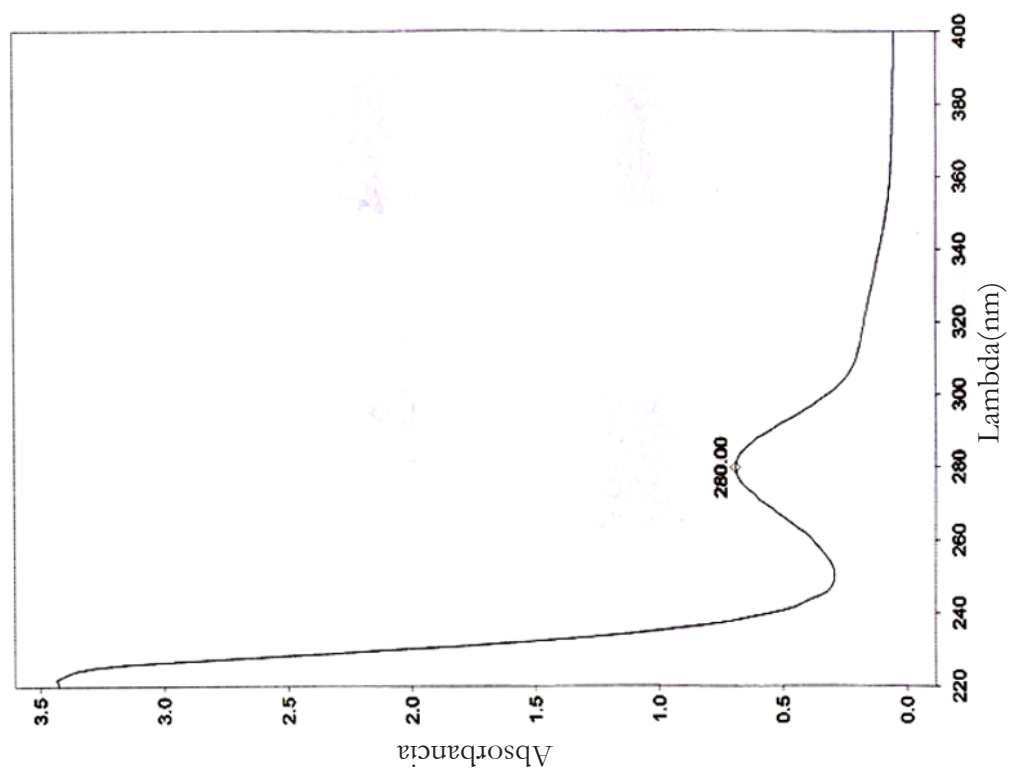


Figura 16
Absorción UV del flavonoide R2.2 en AlCl₃

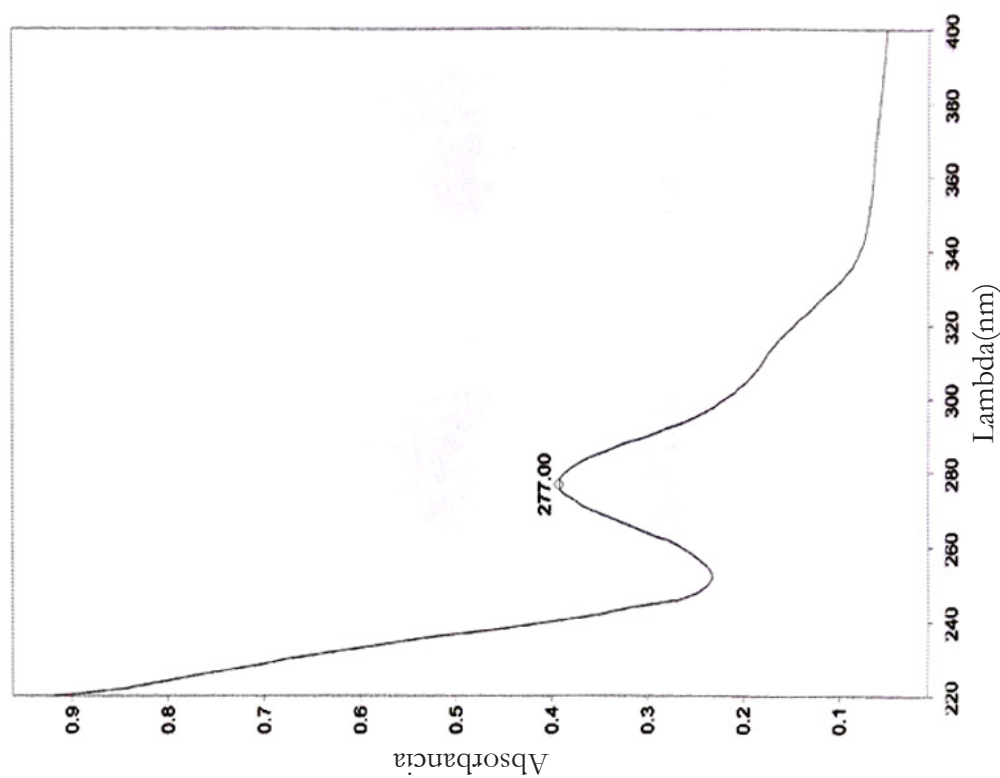
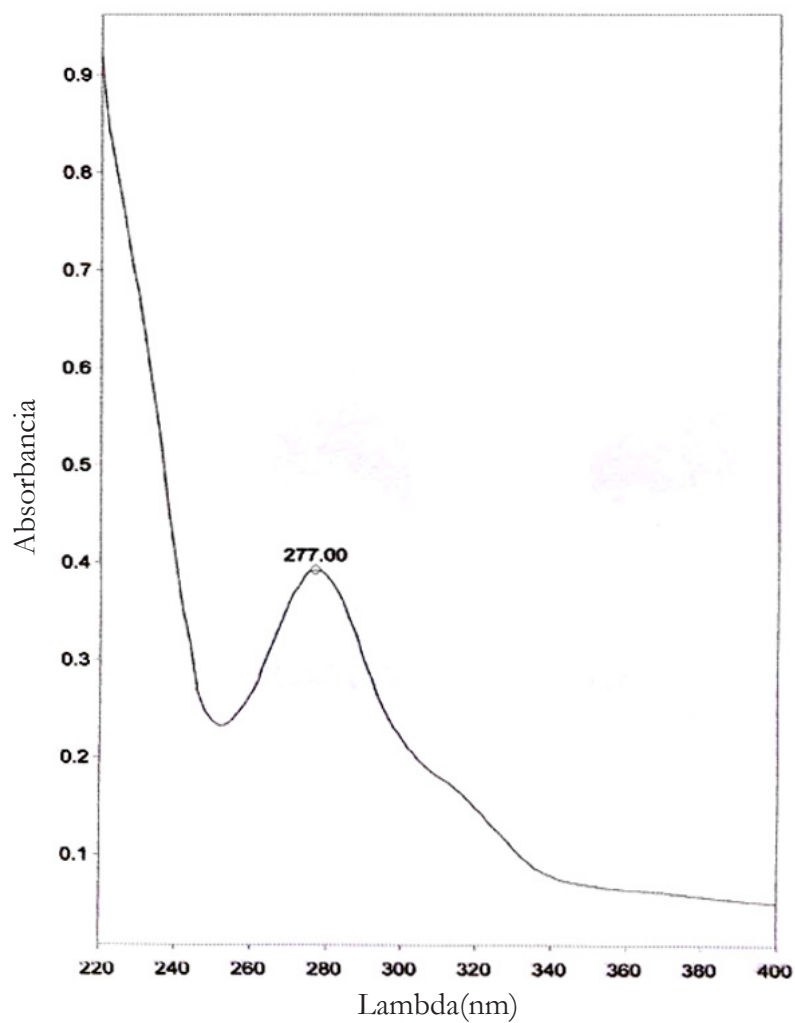




Figura 17

Absorción UV del flavonoide R2.2 en $AlCl_3/HCl$



- Se puede determinar la estructura del flavonoide aislado R3.1, a través de su espectro UV y los espectros obtenidos de las reacciones de desplazamiento, las cuales en las figuras de la 18 a la 23.



Figura 18

Absorción UV del flavonoide R3.1 en metanol

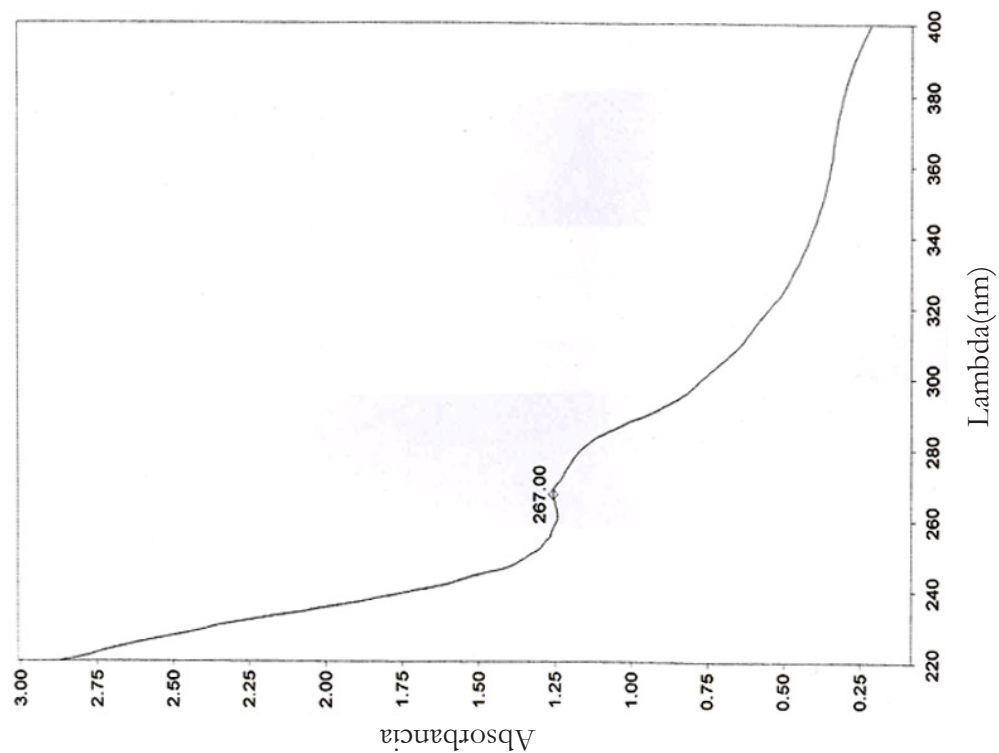


Figura 19

Absorción UV del flavonoide R3.1 en NaoMe

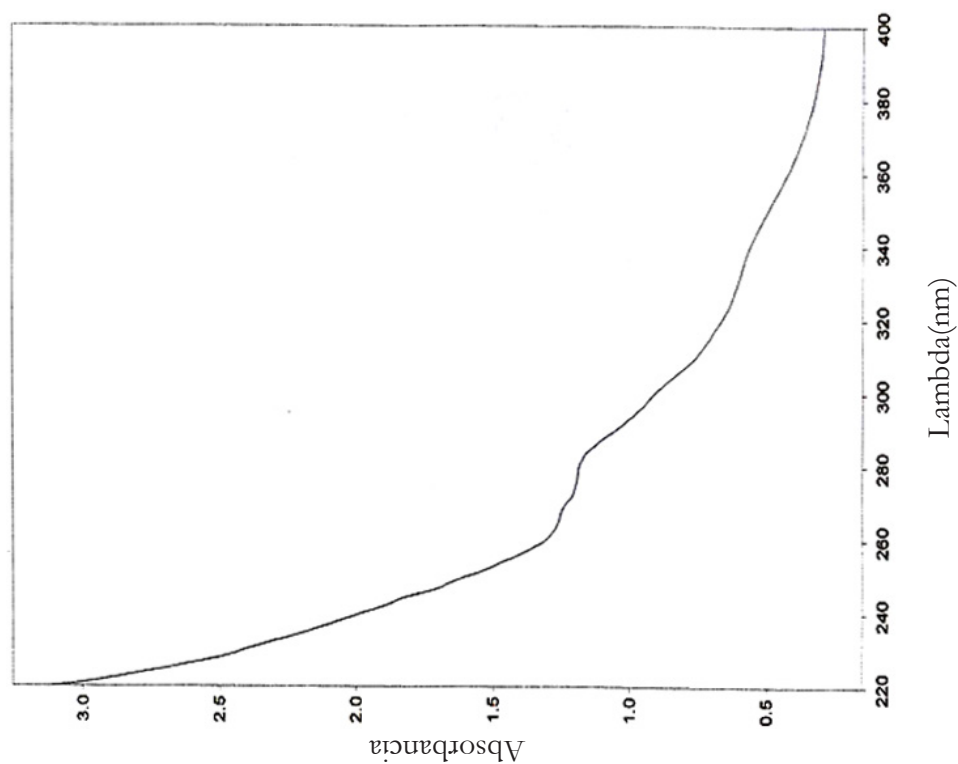




Figura 21

Absorción UV del flavonoide R3.1 en NaOAc/H₃BO₃

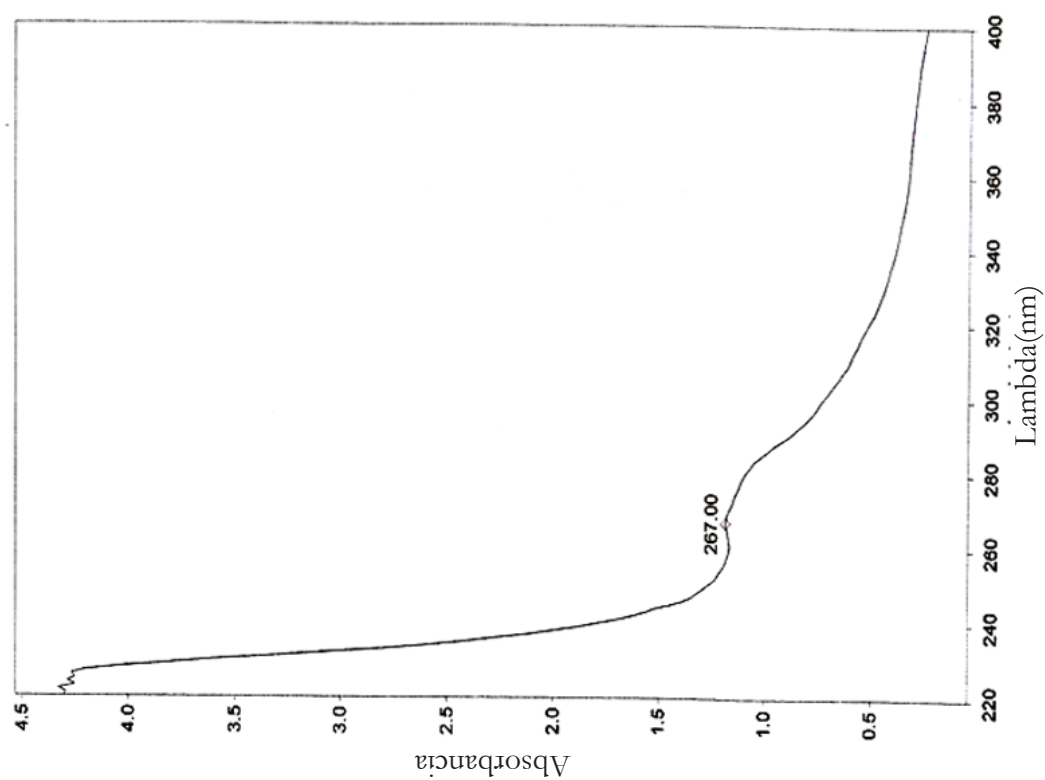


Figura 20

Absorción UV del flavonoide R3.1 en NaOAc

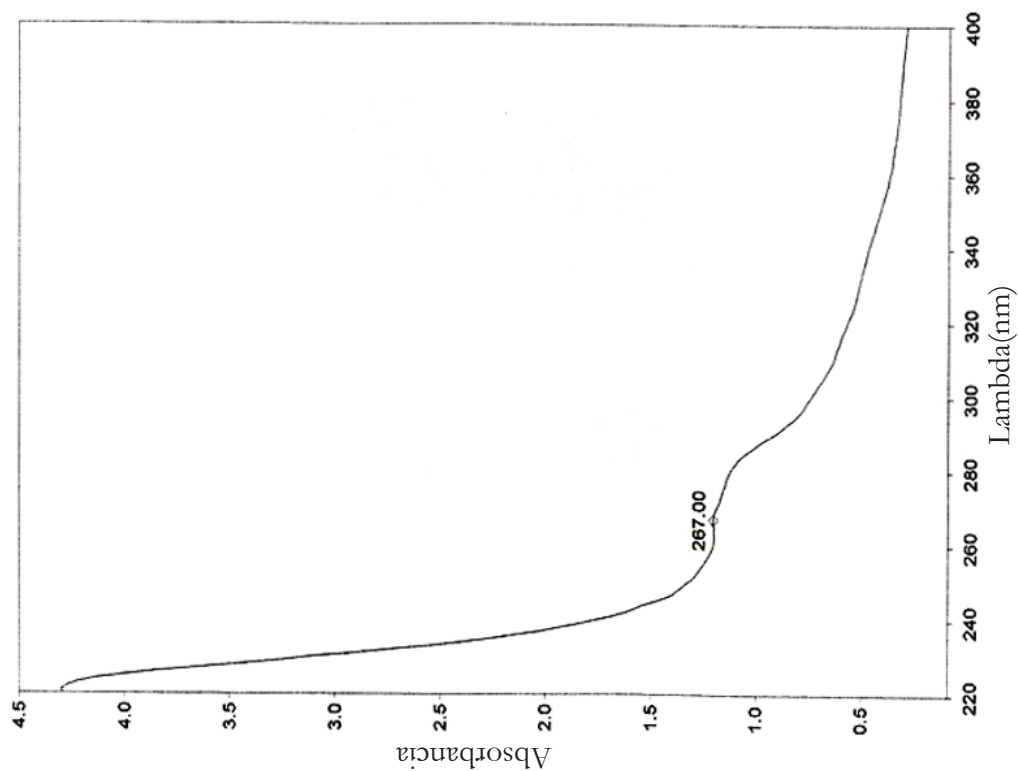




Figura 22

Absorción UV del flavonoide R3.1 en $AlCl_3$

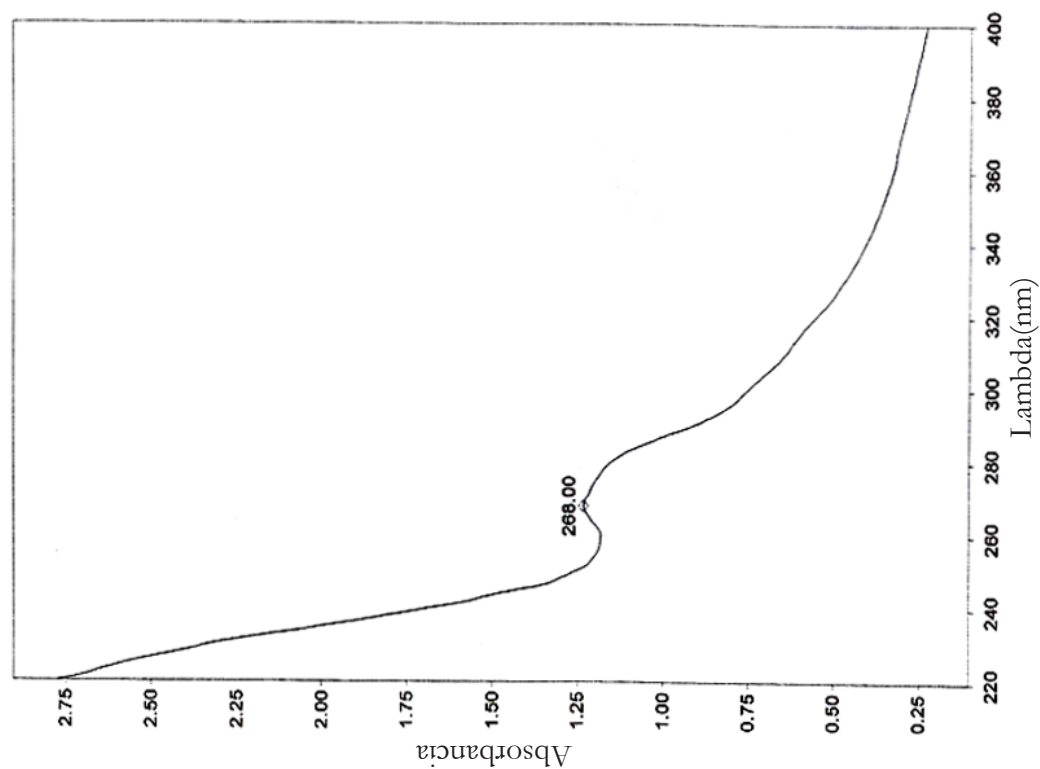
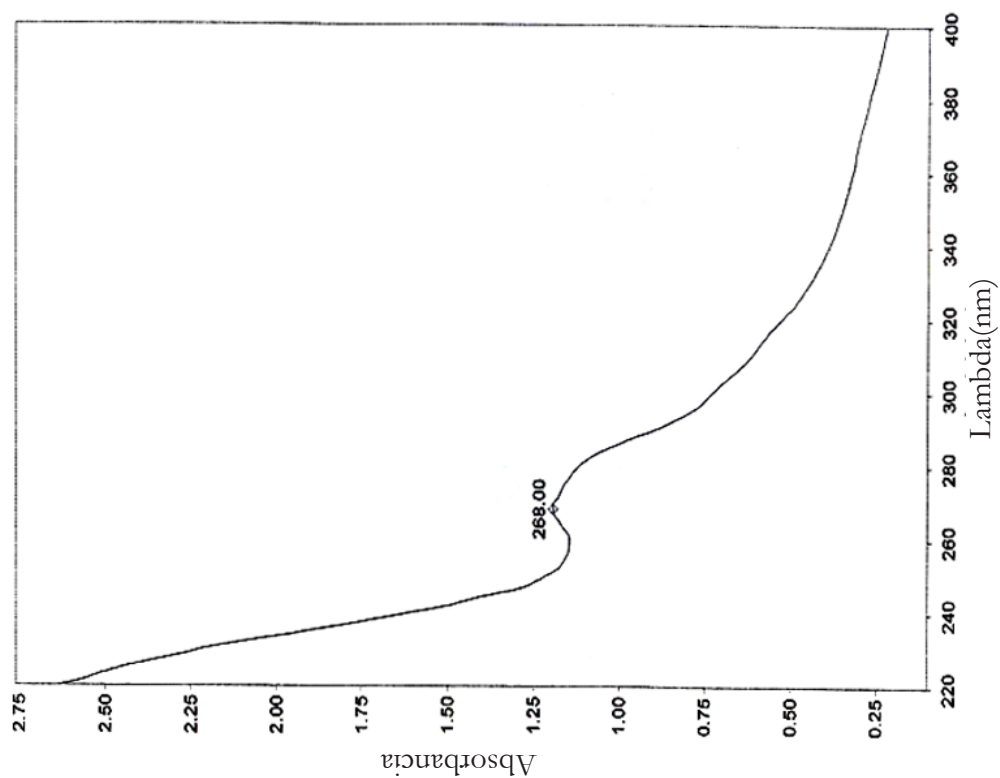


Figura 23

Absorción UV del flavonoide R3.1 en $AlCl_3/HCl$





- Se puede determinar la estructura del flavonoide aislado R4.1, a través de su espectro UV y los espectros obtenidos de las reacciones de desplazamiento, las cuales en las figuras de la 24 a la 29.

Figura 24

Absorción UV del flavonoide R4.1 en metanol

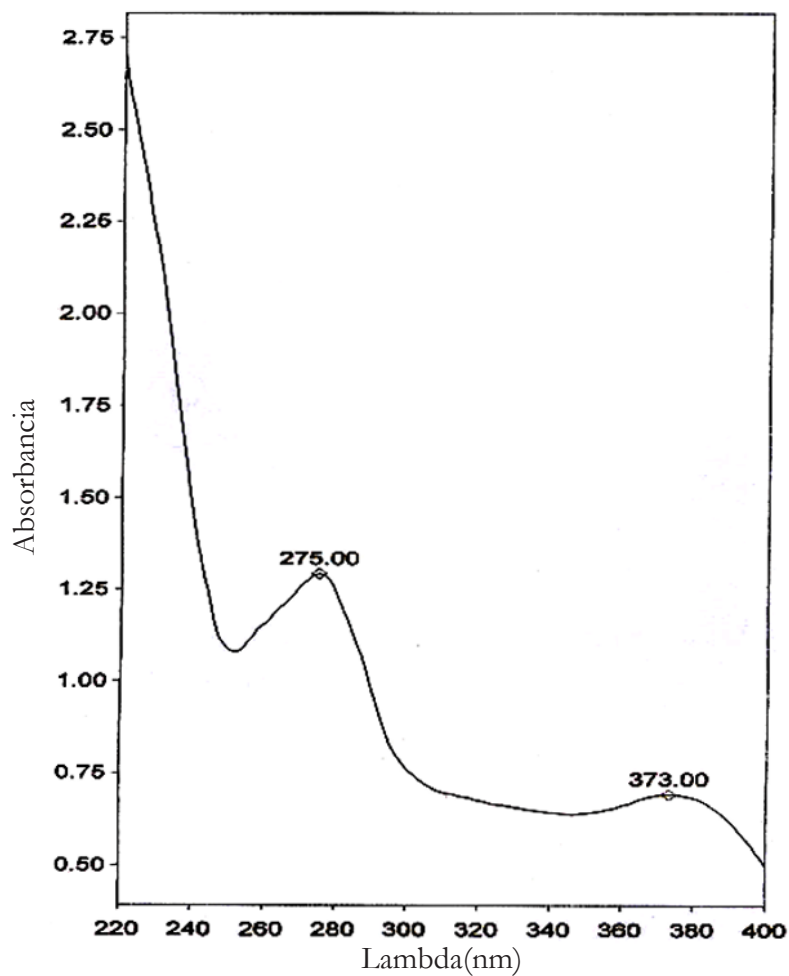




Figura 25

Absorción UV del flavonoide R4.1 en NaOMe

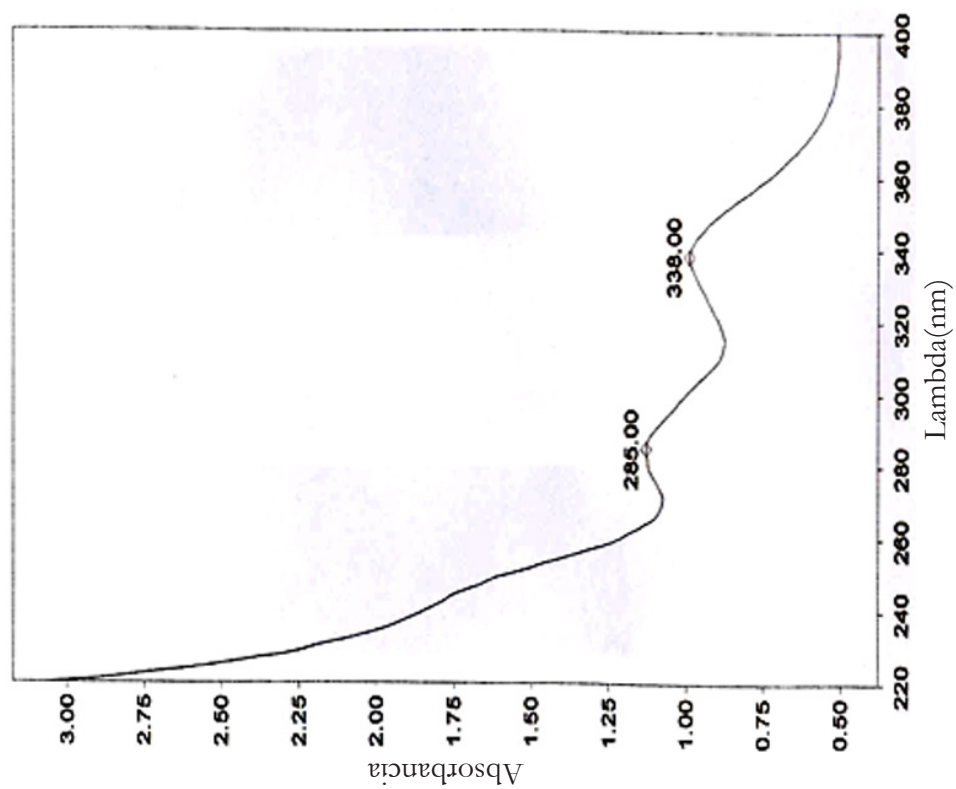


Figura 26

Absorción UV del flavonoide R4.1 en NaOAc

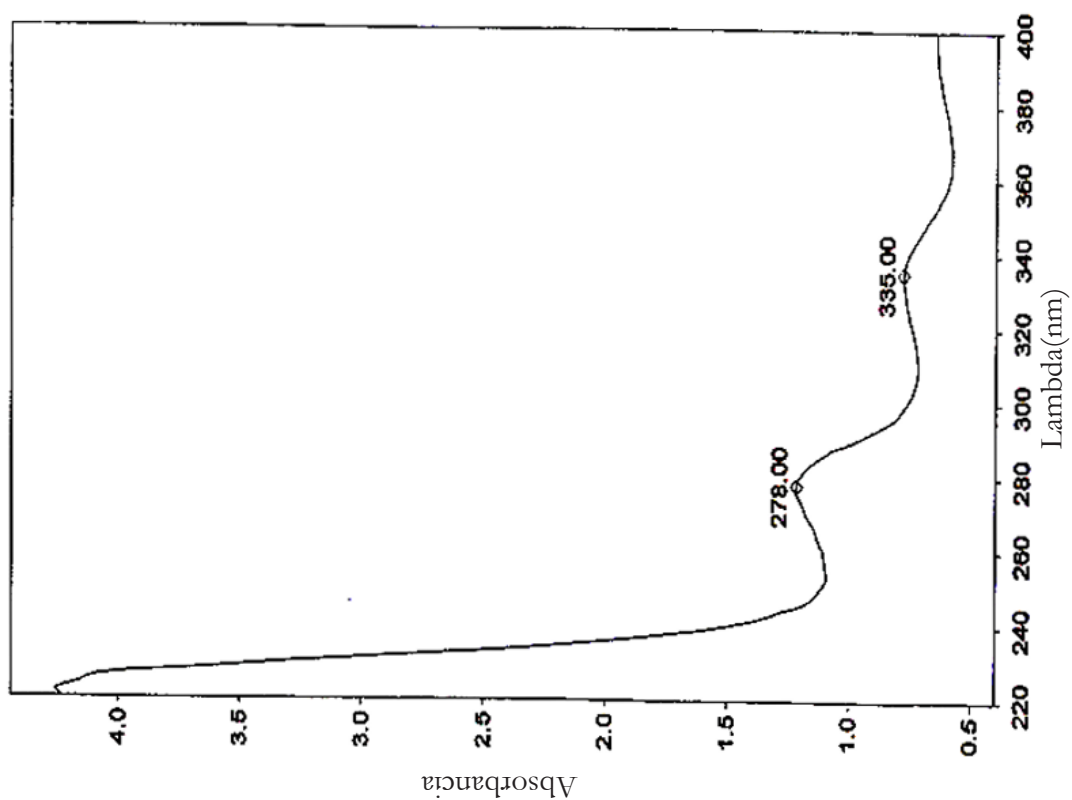




Figura 28
Absorción UV del flavonoide R4.1 en *AlCl3*

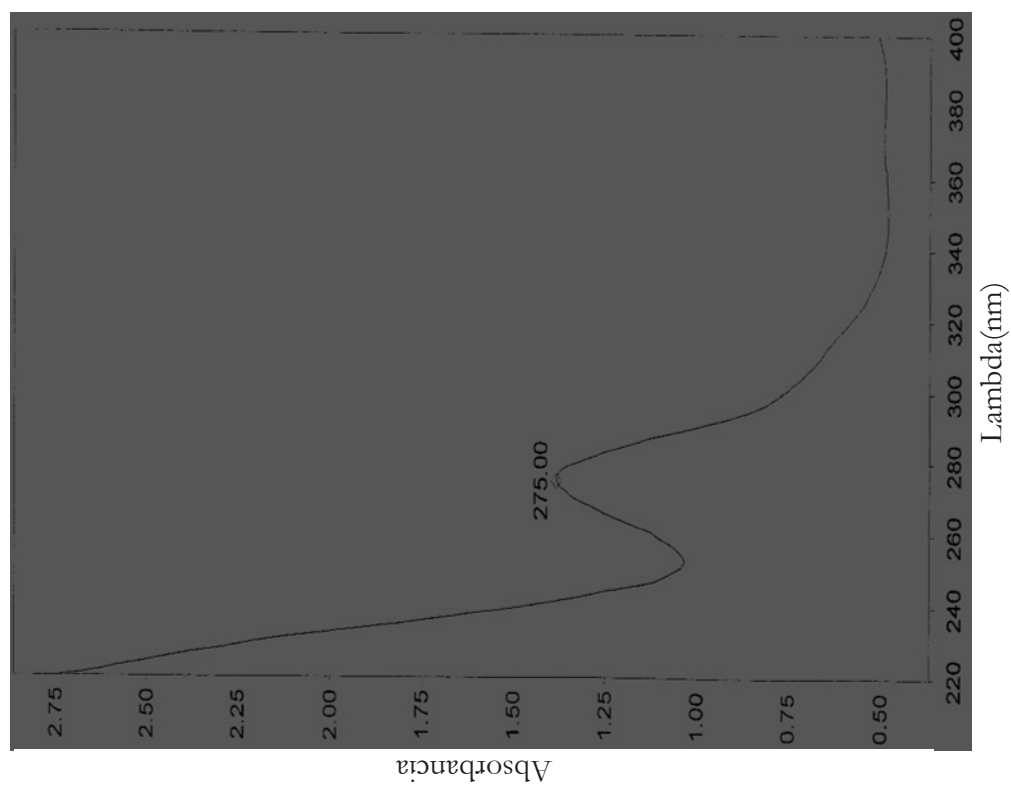


Figura 27
Absorción UV del flavonoide R4.1 en *NaOAc/H3BO3*

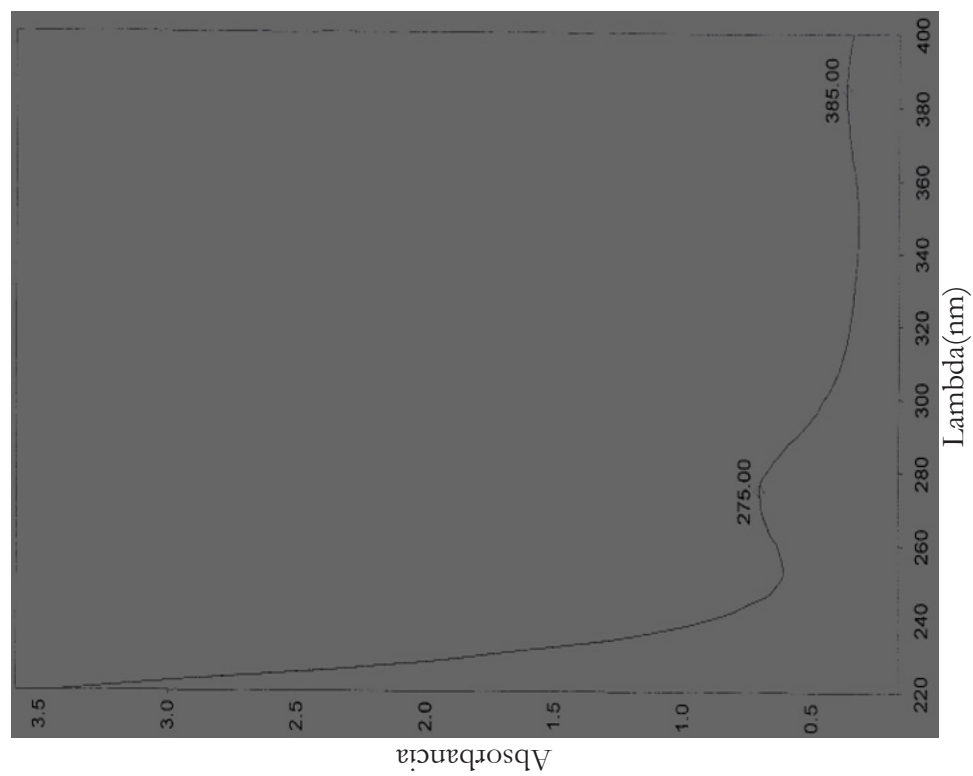
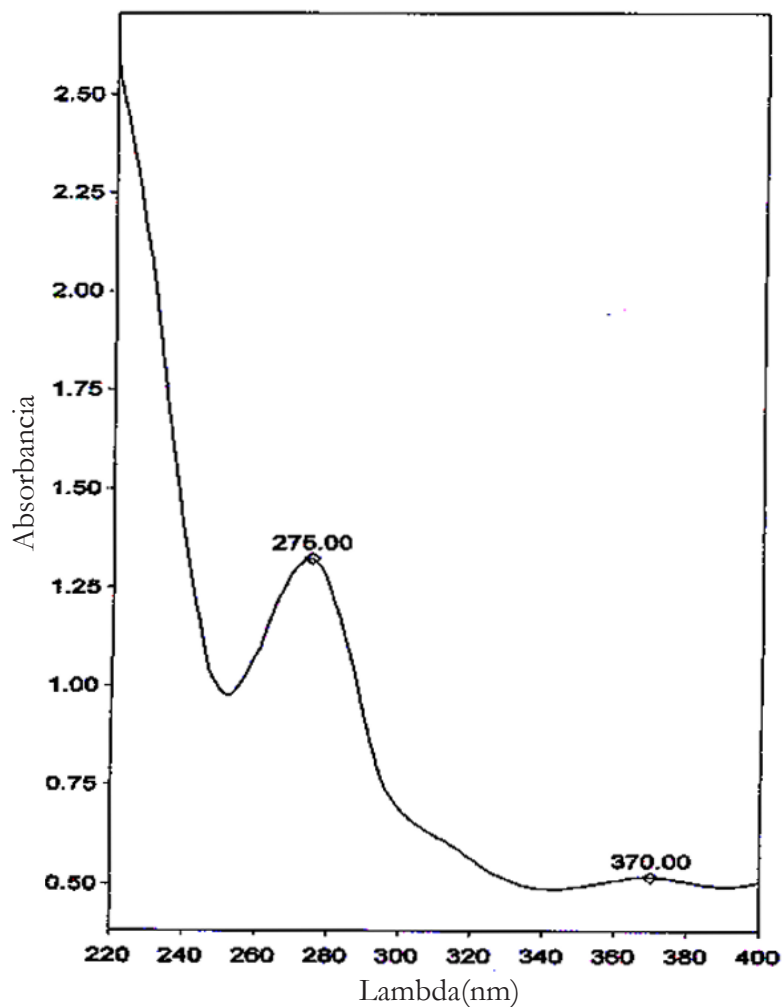




Figura 29

Absorción UV del flavonoide R4.1 en AlCl₃/HCl



- Los valores R_f de los flavonoides aislados: en la Tabla 4 se muestra los resultados de los valores R_f de los flavonoides aislados en dos sistemas de solventes.

Tabla 4

Valores R_f de los flavonoides aislados

Flavonoides aislados		R _f		
		n-buOH:HOA-C: H ₂ O (10:1:0.5)	CHCl ₃ :MeOH (3:1)	CHCl ₃ :MeOH (1:1)
R2.1	(7-hidroxiflavanona)	0.80	0.86	0.82
R2.2	(7-hidroxidihidroflavonol)	0.78	0.85	0.81
R3.1	(5,6,7-trihidroxiisoflavona)	0.74	0.83	0.79
R4.1	(6,7-dihidroxiisoflavonol)	0.77	0.84	0.80



Los valores de R_f hallados, como se muestra en la Tabla 4 no son sujetos a discusión ya que no se encontraron reportes bibliográficos al respecto. La pureza de los flavonoides aislados fue determinada por cromatografía en capa fina con diferentes sistemas de elución: CHCl₃:MeOH (1:1), CHCl₃:MeOH (3:1), y CHCl₃:MeOH (9:1) y n-buOH:HOAc:H₂O (10:1:0.5) obteniéndose resultados satisfactorios.

3.8.6. De la curva patrón

La Tabla 5 muestra los resultados de la absorbancia para los diferentes patrones que se utilizan para la construcción de la curva patrón para determinar el efecto antioxidante de los flavonoides aislados y los extractos obtenidos.

Tabla 5

Absorbancia de los patrones

N.º tubo	Ácido Ascórbico (mg)*	Absorbancia +
1	0.00	0.0000
2	0.01	0.0875
3	0.02	0.1255
4	0.03	0.1795
5	0.04	0.2335
6	0.05	0.2743
7	0.06	0.3288
8	0.07	0.3819
9	0.08	0.4320

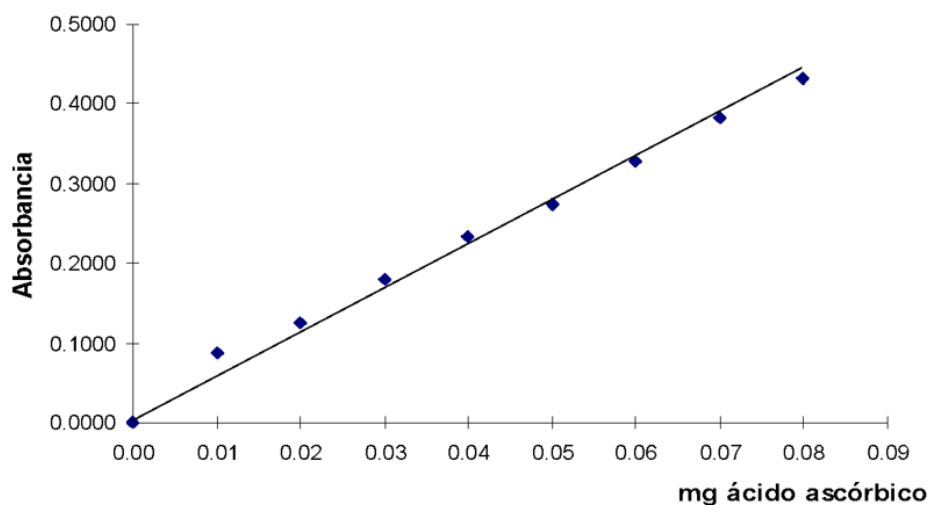
Nota. * Calculado hecho a partir de las concentraciones de la Tabla 4

+ Valores medidos en spectrophotometer UV-Visible Evolution 300



Figura 30

Curva Patrón de Ácido Ascórbico para determinar el efecto antioxidante



Como se observa en la Tabla 5 y el gráfico 30 los resultados obtenidos cumplen con la ley de Beer, ley que establece: la absorbancia es proporcional a la concentración de las especies absorbentes. Debido a que se construyó la curva patrón con soluciones cuya concentración están por debajo a 0.01M de ácido ascórbico, es decir que guardan una relación lineal, del modelo $y = a + bx$, cuyo análisis estadístico es:

Regresión simple - Absorbancia frente a mg ácido ascórbico

Análisis de Regresión - Modelo Lineal $Y = a + b \cdot X$

Variable dependiente: absorbancia

Variable independiente: mg ácido ascórbico

Error Estadístico

Parámetro Estimación estándar T P-Valor

Ordenada 0,0194933 0,00631196 3,08832 0,0176

Pendiente 5,18767 0,132578 39,1293 0,0000





Análisis de la Varianza

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
--------	-------------------	----	----------------	------------	---------

Modelo	0,161471	1	0,161471	1531,10	0,0000
--------	----------	---	----------	---------	--------

Residuo	0,000738227	7	0,000105461		
---------	-------------	---	-------------	--	--

Total (Corr.)	0,16221	8			
---------------	---------	---	--	--	--

Coefficiente de Correlación = 0,997722

R-cuadrado = 99,5449 porcentaje

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 99,4799 porcentaje

Error estándar de est. = 0,0102694

Error absoluto medio = 0,00650222

Estadístico de Durbin-Watson = 2,17389 (P=0,2251)

Autocorrelación residual en Lag 1 = -0,34857

Según la técnica de regresión lineal los resultados muestran del ajuste al modelo lineal para describir la relación entre Absorbancia y mg ácido ascórbico. La ecuación del modelo ajustado es:

Absorbancia = 0,0194933 + 5,18767*mg ácido ascórbico

Dado que el p-valor en la Tabla ANOVA es inferior a 0.01, existe relación estadísticamente significativa entre Absorbancia y mg ácido ascórbico para un nivel de confianza del 99 %.

El estadístico R-cuadrado indica que el modelo explica un 99,5449 % de la variabilidad en Absorbancia. El coeficiente de correlación es igual a 0,997722, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar de la estimación muestra la



desviación típica de los residuos que es 0,0102694. Este valor puede usarse para construir límites de la predicción para las nuevas observaciones.

El error absoluto medio (MAE) de 0,00650222 es el valor medio de los residuos. El estadístico Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en el que se han introducido los datos en el fichero. Dado que el p-valor es superior a 0.05, no hay indicio de autocorrelación serial en los residuos.

3.8.7. Efecto antioxidante de los extractos crudos

En la Tabla 6 se reportan los valores de la absorbancia y su equivalencia en mg de ácido ascórbico de los extractos crudos.

Tabla 6

Absorbancia y efecto antioxidante en función de mg de ácido ascórbico de los extractos crudos

Extracto crudo	Absorbancia	Ácido Ascórbico (mg)
Pétalo 90 % etanol	0,1015	0,0191
Pétalo 40 % etanol	0,1114	0,0201
Hojas 90 % etanol	0,1216	0,0220
Hojas 40 % etanol	0,1000	0,0181
Cabezuela 90 % etanol	0,1083	0,0196
Cabezuela 40 % etanol	0,1033	0,0187
Pétalo acuoso	0,0606	0,0110
Hojas acuoso	0,0555	0,0100
Cabezuela acuosa	0,0772	0,0140

En la Tabla 6 se muestran los resultados promedio de tres repeticiones del efecto antioxidante de extractos crudos de hojas, pétalos y cabezuelas en etanol al 90 %, etanol al 40 % y agua, expresados en mg de ácido ascórbico determinados por extrapolación en la curva patrón.



Tabla 7

Efecto antioxidante de 1 mg extracto crudo en función a mg de ácido ascórbico

Extracto crudo	Ácido Ascórbico (mg)
Pétalo 90 % etanol	0,09
Pétalo 40 % etanol	0,08
Hojas 90 % etanol	0,08
Hojas 40 % etanol	0,07
Cabezuela 90 % etanol	0,08
Cabezuela 40 % etanol	0,08
Pétalo acuoso	0,07
Hojas acuoso	0,06
Cabezuela acuosa	0,06

De los resultados, se puede afirmar que todos los extractos poseen efecto antioxidante comparado con el ácido ascórbico, confirmando lo reportado por Zúñiga y Torres (2005). El extracto hidroalcohólico al 90 % de pétalos presenta el mayor efecto antioxidante, debido a que contiene mayor proporción de flavonoides y compuestos fenólicos y son estos metabolitos los que pueden actuar como antioxidantes (Azcon y Talon, 1996).

3.8.8. Efecto antioxidante de los flavonoides aislados

En la Tabla 8 se muestran los datos obtenidos de los valores de absorbancia y su equivalencia en mg de ácido ascórbico de los flavonoides aislados.

Tabla 8

Absorbancia y efecto antioxidante en función de mg de ácido ascórbico de los flavonoides aislados

Flavonoide aislado	Absorbancia	Ácido Ascórbico (mg)
R2.1 (7-hidroxiflavanona)	0.3187	0.0576
R2.2 (7-hidroxidihidroflavonol)	0.1449	0.0262
R3.1 (5,6,7-trihidroxiisoflavona)	0.1472	0.0266
R4.1 (6,7-dihidroxiisoflavonol)	0.1518	0.0275



Los resultados muestran los promedios de tres repeticiones del efecto antioxidante de los flavonoides aislados expresados en equivalencia de mg de ácido ascórbico determinados por extrapolación en la curva patrón. En la Tabla 9 se observa los resultados del efecto antioxidante de los flavonoides extraídos de los pétalos de *Viguiera procumbens* (Persoon) S. F. Blake, que según Zúñiga y Torres (2005) deben ser reportados mediante la equivalencia de 1 mg de flavonoide aislado en mg de ácido ascórbico.

Tabla 9

Efecto antioxidante de 1 mg del flavonoide aislado en función a mg de ácido ascórbico

	Flavonoide aislado	Ácido Ascórbico (mg)
R2.1	(7-hidroxiflavanona)	0.18
R2.2	(7-hidroxidihidroflavonol)	0.10
R3.1	(5,6,7-trihidroxiisoflavona)	0.11
R4.1	(6,7-dihidroxiisoflavonol)	0.13
	Extracto pétalo 90 % etanol	0.09

En los resultados de la Tabla 9 muestra que todos los flavonoides aislados presentan efecto antioxidante mayor al extracto etanólico al 90 %, probablemente se deben a la pureza de la muestra, pues el extracto crudo contiene componentes que no tienen efecto antioxidante. Los flavonoides contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están estructurados bajo un sistema C6-C3-C6, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que puede formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. Los anillos aromáticos tienen una alta estabilidad debido al carácter aromático, por la deslocalización de los electrones; por ende, una reactividad química relativamente baja, como en el proceso de oxidación, para lo cual requiere de condiciones drásticas. Los flavonoides aislados muestran efecto antioxidante porque presentan doble ligadura en conjugación con la función 4-oxo del anillo C y Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C aspectos que son mencionados por Martínez, et al. (2002).



3.8.9. Flavonoide aislado R2.1 (7-hidroxiiflavanona)

El metileno al tener dos sustituyentes diferentes se oxida fácilmente a alcoholes. El carbono 3 de las flavanonas es un metileno por consiguiente es posible su oxidación a un alcohol, en este caso al reaccionar con el complejo de molibdeno (6+).

3.8.10 Flavonoide aislado R2.2 (7-hidroxi-dihidroflavonol)

Los dihidroflavonoles se caracterizan por tener un grupo hidroxilo en el carbono 3, alcohol secundario; los alcoholes secundarios se oxidan con facilidad a cetonas al reaccionar con el complejo de molibdeno 6+.

3.8.11. Flavonoide aislado R3.1 (5,6,7-trihidroxiisoflavona)

El carbono 2 en las isoflavonas es la parte más débil y vulnerable a sufrir reacciones, dentro de ellas la oxidación de alcoholes, debido a dos aspectos: a) el enlace con el oxígeno es polar, por la mayor electronegatividad que tiene este elemento, y b) la presencia del doble enlace.

3.8.12. Flavonoide aislado R4.1 (6,7-dihidroxi-flavonol)

Los flavonoles presentan una doble ligadura en conjugación con la función 4-oxo del anillo C, donde el carbono 3 implicado en el doble enlace que además contiene grupo hidroxilo es susceptible a reacciones de oxidación transformándose en cetona, que por reacción con el 12-molibdo fosfórico (12-MPA) se forma el grupo oxo en el carbono 3.

Además, la actividad antioxidante de los flavonoides resulta también de una combinación de las propiedades quelantes con iones metálicos transitorios, (Pérez, 2003). los flavonoides aislados podrían mostrar actividad antioxidante debido a la acción quelante que tiene el oxígeno del grupo hidroxilo que posee dos pares de electrones no enlazados que actúan



como un donador de electrones a especies químicas deficientes de electrones, como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} . Iones que pueden participar en reacciones redox, que al ser quelados son neutralizados para participar en este tipo de reacciones.

Los flavonoides aislados no presentan grupos hidroxilo en posición orto en el anillo B, no permitiéndoles reaccionar con radicales libres, por consiguiente, no presentarían efecto antioxidante frente a estas especies químicas.

3.8.13. Referencias a los flavonoides aislados

Nevadensin es un flavonoide reportado por Bohm y Stuessy (2001) de la especie *Viguiera procumbens* que corresponde al tipo de las flavonas y Gao, F. et al (1989), reportan dos flavonoides 7,3'-dimetil-eter-eridictyol y 3'-metil-eridictyol en *Viguiera lanciniata* que son del tipo de las flavanonas. Uno de los flavonoides aislados es la 7-hidroxiflavanona perteneciente al tipo de las flavanonas que según Gros (1985) es un precursor de las flavonas; por consiguiente, la sustancia aislada tiene relación con la nevadensin y son del mismo tipo encontradas en la *Viguiera lancianiata*.

Rieseberg y Schilling (1985) reportan flavonoides florales en el género *Viguiera* series *Viguiera* principalmente pertenecientes al tipo de los flavonoles y el flavonoide aislado 6,7-dihidroxiflavanol es de este tipo, entonces se puede referir que existe una similitud en el tipo de flavonoide.





3.9. Conclusiones y recomendaciones

Basado en estudios realizados con la especie *Viguiera procumbens* (Persoon) S.F. Blake se concluyó que:

- Las muestras de extractos al 90 %, 40 % e hidroalcohólicos de pétalos, hojas y flores contenían diferentes componentes con mayor proporción de flavonoides, aminoácidos, taninos y lactonas; menores proporciones de alcaloides, azúcares reductores, resinas, saponinas, triterpenoides y esteroides y una pequeña cantidad de glucósidos.
- Se han distinguido cuatro clases de flavonoides, que parecen ser los más comunes, y cuyas estructuras se han determinado a partir de sus espectros UV en metanol y en presencia de un reactivo de desplazamiento: a) correspondientes a 7-hidroxi flavanon flavanonas, b) dihidroflavanoles correspondientes a 7-hidroxi dihidroflavonoles, c) isoflavonas correspondientes a 5,6,7-trihidroxi isoflavonas y d) correspondientes a 6,7-dihidroxi isoflavonas.
- Los flavonoides aislados y los extractos crudos tienen propiedades antioxidantes; los resultados, expresados como 1 mg de flavonoides correspondiente a mg de ácido ascórbico, son:
 - 0.18 mg para la 7-hidroxi flavanona
 - 0.10 mg para el 7-hidroxi dihidroflavonol
 - 0.11 mg para la 5,6,7-trihidroxi isoflavona
 - 0.13 mg para el 6,7-dihidroxi flavonol



CAPÍTULO IV

REFLEXIONES FINALES

Para empezar a darle un cierre a este libro, se cita a Ruiz-Cruz et al. (2017) quienes en su investigación hacen un resumen sobre gran parte de lo que se ha evidenciado en los estudios realizados: los flavonoides son metabolitos secundarios de las plantas que presentan algunas características deseables. Estos compuestos pueden agruparse en diferentes clases en función de su estructura básica. Se ha informado de que los flavonoides son importantes para la salud humana por sus actividades antioxidantes, antibacterianas, antivirales y antiinflamatorias, y porque actúan como eliminadores de radicales libres, ya que son agentes reductores potenciales que protegen del daño oxidativo, que confiere el contenido de grupos hidroxilo. En los últimos años, los flavonoides se han investigado por su capacidad para reducir la incidencia de muchas enfermedades, inhibir el daño celular, reparar el proceso del ADN y reducir el estrés oxidativo. Además, se ha demostrado que los flavonoides tienen efectos cardioprotectores, que pueden mejorar la vasodilatación coronaria y evitar la oxidación de las LDL, y que también pueden tener efectos neuroprotectores. Los flavonoides también se han utilizado



en la industria alimentaria por su capacidad para conservar los alimentos, aportar color y sabor y elaborar suplementos dietéticos, entre otras importantes aplicaciones industriales.

Así como tampoco es mentira que las personas hayan usado plantas con fines medicinales desde tiempos prehistóricos, e incluso hoy, a pesar de los avances médicos modernos, continúan desempeñando un papel central en el mantenimiento de la salud de la mayoría de la población mundial. Si se tienen en cuenta sus diferentes formas de uso, desde la elaboración de decocciones e infusiones desde la fitoterapia en zonas rurales y países pobres hasta la extracción de principios activos para la elaboración de medicamentos en países desarrollados, se estima que alrededor de 10 000 especies de plantas se utilizan con fines medicinales en todo el mundo, la mayoría de las cuales se utilizan en los sistemas médicos tradicionales (Carvajal Rojas et al., 2009).

Como se mencionó anteriormente, los flavonoides tienen muchos efectos beneficiosos para la salud y son una parte importante de la industria alimentaria. Las frutas, verduras y diversas bebidas son las principales fuentes de flavonoides. Sin embargo, durante el almacenamiento y muchos procesos de procesamiento, el contenido de flavonoides disminuye debido a varios factores de degradación (Routray y Orsat, 2012).

En suma, y tal como lo explican Kumar y Pandey (2013) la investigación sobre los flavonoides derivados de plantas ha atraído un interés creciente debido a varios estudios epidemiológicos que reportan múltiples beneficios para la salud. Dado que los flavonoides están directamente relacionados con la salud y la composición de la alimentación humana, es necesario evaluar su interrelación estructura-función. La biodisponibilidad, el metabolismo y la actividad biológica de los flavonoides depende de la configuración, el número total de grupos hidroxilo y la sustitución de grupos funcionales en la estructura central. Las frutas y verduras, así como el té y el vino, son las principales fuentes dietéticas de flavonoides en



los seres humanos. Estudios recientes se han centrado en los efectos de los flavonoides en la salud humana. Se ha demostrado que muchos flavonoides tienen efectos antioxidantes, captadores de radicales libres, prevención de enfermedades coronarias, protección del hígado, antiinflamatorios y anticancerígenos, mientras que algunos flavonoides tienen efectos antivirales potenciales. En los sistemas de las plantas, los flavonoides ayudan a combatir el estrés oxidativo y actúan como reguladores del crecimiento.

Finalmente, se abre la invitación para que otros investigadores, tanto químicos, biólogos o demás científicos interesados en la botánica descubran cómo cada planta de la tierra tiene un misterio que ansía ser descubierto. Si tan solo con una pequeña flor se pueden lograr resultados inesperados que puedan dar pie a estudios mucho más grandes, experimentados y a mucho mayor escala, no deja de ser fascinante el tan solo imaginar todo lo que puede lograr gracias a lo que la naturaleza brinda. Nuestra misión como científicos es la de crear herramientas que mejoren la calidad de vida de los seres vivos y ya a este pequeño paso puede ser que esa meta se vuelva mucho más tangible.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, Y., Castellano, Orelvis., Roble, J., Gondres, Manuel., Fría, J., & Torres, E. (2015). Actividad antimicrobiana in vitro de *Pteris vittata* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152015000400013&lng=es&tlng=es.
- Alvarado, C. (s.f). *Cromatografía de capa fina y columna*.
- Álvarez Castro. E. y Orallo Cambeiro, F. (2003). Actividad biológica de los flavonoides (I). Acción frente al cáncer. *Offarm: farmacia y sociedad*, 22(10), 130-140.
- Ángeles López, G., Brindis, F., Cristians Niizawa, S. y Ventura Martínez, R. (2014). *Cannabis sativa* L., una planta singular. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 45(4), 1-6. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000400004&lng=es&tlng=es.
- Arakawa, N. S., Gobbo-Neto, L., Ambrosio, S. R., Antonucci, G. A., Sampaio, S. V., Pupo, M. T. y Da Costa, F. B. (2013). Unusual biotransformation products of the sesquiterpene lactone budlein A by *Aspergillus* species. *Phytochemistry*, 96, 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.09.022>



- Bimakr, M., Rahman, R., Taip, F., Ganjloo, A., Salleh, L., Selamat, J., Hamid, A. y Zaidul, I. (2011). Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. *Food and Bioproducts Processing*, 89(1), 67-72. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.03.002>
- Cabrera, A. y Mach, N. (2012). Flavonoides como agentes quimiopreventivos y terapéuticos contra el cáncer de pulmón. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 16(4), 143-153. [https://doi.org/10.1016/S2173-1292\(12\)70089-3](https://doi.org/10.1016/S2173-1292(12)70089-3)
- Camelino, S., Minchiotti, M., Bariles, R., López Padilla, R., Colazo, J. (2018). Optimización de un procedimiento para la determinación de oro mediante espectrofotometría UV/Vis. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 23(2). <https://doi.org/10.1590/S1517-707620180002.0342>.
- Cartaya, O. (2013). Reseña bibliográfica Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*, 22(2), 5-14. <https://doi.org/10.1234/ct.v22i2.699>
- Carvajal Rojas, L., Hata Uribe., Sierra Martínez, N. y Rueda Niño, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*strychnos schultesiana* krukoff). *Revista Colombia Forestal*, 12, 161-170. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-07392009000100011&lng=en&tlng=es.
- Ciappini, M., Stoppani, F., Martinet, R. y Alvarez, M. (2013). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (19), 45-51. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-75872013000100007&lng=es&tlng=es.
- Damián-Reyna, A., González-Hernández, J. y Chávez-Parga, M. (2016). Procedimientos actuales para la extracción y purificación. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 18(1), 135-147. <http://10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.57724>



- De la Cruz-Arango, J., Gómez-Carrión, J., Chanco-Estela, M., Carrillo-Fuentes, E. y Aucasime-Medina, L. (2020). Flora y vegetación de la provincia de Huamanga (Ayacucho-Perú). *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(1), 3-18. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-38592020000100002&lng=es&tlng=es.
- De Luis, D. y Aller, R. (2008). Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular. *Anales de medicina interna*, 25(3), 105-107. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992008000300001&lng=es&tlng=es.
- Duarte, J. y Pérez-Vizcaíno, F. (2015). Protección cardiovascular con flavonoides. Enigma farmacocinético. *Ars Pharmaceutica*, 56(4), 193-200.
- Duke, J. (2010). *La nueva farmacia natural: Alimentos curativos para prevenir y tratar más de 75 males comunes*. Rodale.
- Duo-Long, D., Yuan-Yuan, Z., Xiao-Fen, C., Xin-Yi, H. y Shi-Lan, F. (2011). Advances in application of high-speed countercurrent chromatography in separation and purification of flavonoids. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 39(2), 269–275. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(10\)60419-7](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(10)60419-7)
- Dupuy, O., Murillo, R. y Bonilla, J. (2008). Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Viguiera sylvatica* y *Decachaeta thieleana* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos RAW. *Revista de Biología Tropical*. 56(3), 1063-1073. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442008000300008&lng=en&tlng=es.
- Elsevier. (s.f). Fruits and vegetables may hold the key to treating Alzheimer's. *New Chemistry Research*. <https://bit.ly/3YeHLJh>



- Escamilla Jiménez, C., Cuevas Martínez, E. y Guevara Fonseca, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista Facultad de Medicina UNAM*, 52(2), 73-75.
- Estrada-Reyes. R., Ubaldo-Suárez, S. y Araujo-Escalona, A. (2012). Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. *Salud Mental*, 35(5). http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33252012000500004&lng=es&tlng=es.
- Fernández Rebaza, G., Chambi Velasquez, Y., Ayme Huamatil, J., Quiñones Huayaney, M., Tolentino Chavez, J., Miranda García, V. y Bonilla Rivera, P. (2015).
- Freepik. (s.f). *Concepto de colección de superalimentos*. [Imagen]. <https://bit.ly/3EsMwa2>
- Gasaly, N., Riveros, K. y Gotteland, M. (2020). Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Revista chilena de nutrición*, 47(2), 317-327. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182020000200317>
- González-Jiménez, F., Hernández-Espinosa, N., Cooper-Bribiesca, B., Núñez-Bretón, L., Reyes-Reyes. M. (2015). Empleo de Antioxidantes en el tratamiento de diversas enfermedades crónico-degenerativas. *VERTIENTES Revista Especializada en Ciencias de la Salud*, 18(1), 16-21.
- Hernández Guiance, S., Marino, L., Isern, D., Coria, I. y Irurzun, I. (2019). Flavonoides: Aplicaciones Medicinales e Industriales. *Invenio*, (40), 11-27. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/113738>
- Hurtado-Huarcaya, J., Castañeda, R. y Albán-Castillo, J. (2020). Asteráceas medicinales en dos comunidades andinas del sur del Perú: Quinoa (Ayacucho) y Lircay (Huancavelica). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 20(4), 351-366. <https://doi.org/10.37360/blacpma.21.20.4.26>



- Instituto Nacional del Cáncer. (s.f). Prooxidante. *En Diccionario de cáncer del NCI*. Recuperado en 20 de febrero de 2023. <https://bit.ly/3XLPFZi>
- Kumar, S. y Pandey, A. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Li, Y., & Paxton, J. W. (2013). The effects of flavonoids on the ABC transporters: consequences for the pharmacokinetics of substrate drugs. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 9(3), 267–285. <https://doi.org/10.1517/17425255.2013.749858>
- Limón, D., Díaz, A., Mendieta, L., Luna, F., Zenteno, E. Guevara, J. (2010). Los Flavonoides: Mecanismo de Acción, Neuroprotección y Efectos Farmacológicos. *Mensaje bioquímico*, 34(1), 143-155.
- Liza, M. S., Rahman, R. A., Mandana, B., Jinap, S., Rahmat, A., Zaidul, I. S. M. y Hamid, A. (2010). Supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid from *Strobilanthes crispus* (Pecah Kaca). *Food and Bioproducts Processing*, 88(2-3), 319-326.
- López Luengo, M. (2002). Flavonoides. *Offarm: farmacia y sociedad*, 21(4), 108-113.
- Luna, V. da S., Randau, K. P. ., Ferreira, M. R. A. ., & Soares, L. A. L. . (2022). Development and validation of analytical method by spectrophotometry UV-Vis for quantification of flavonoids in leaves of *Senna occidentalis* Link. *Research, Society and Development*, 11(1). <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i1.18584>
- Mariaca, C. J., Zapata, M., & Uribe, P. (2016). Oxidación y antioxidantes: hechos y controversias. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*, 24(3), 162-173. <https://doi.org/10.29176/2590843X.292>



- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. y Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17(6), 271-278.
- Martins, A. F., Noronha, E. C., Romano, T. da C., & Yamaguchi, K. K. de L. (2020). Cromatografia Em Papel Como Técnica Para Separação De Misturas. *Revista Ensino, Saúde E Biotecnologia Da Amazônia*, 2(esp.), 13. <http://periodicos.ufam.edu.br/index.php/resbam/article/view/6553>
- Moreno, A. (2002). *Etnobiología*. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Oliveira Chaves, J., Correa de Souza, M., Capelasso da Silva, L., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P., Fonseca Machado, A., Forster-Carneiro, T., Vázquez-Espinosa, González-de-Peredo, A., Fernández Barbero, G. y Rostagno, M. (2020). Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. *Frontiers in Chemistry*, 8.
- Oliveira, G. A. y Silva, F. C. (2017). Cromatografia em papel: reflexão sobre uma atividade experimental para discussão do conceito de polaridade. *Química nova na escola, São Paulo*, 39(2), 162-169.
- Panche, A., Diwan, A. y Chandra, S. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5. doi:10.1017/jns.2016.41
- Pérez Trueba, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 22(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002003000100007&lng=es&tlng=es.
- Perron, N. R., García, C. R., Pinzón, J. R., Chaur, M. N. y Brumaghim, J. L. (2011). Antioxidant and prooxidant effects of polyphenol compounds on copper-mediated



DNA damage. *Journal of inorganic biochemistry*, 105(5), 745–753. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.02.009>

Quiñones, M., Miguel, M. y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&tlng=es.

Quiroga, P. (2013). Cromatografía en capa fina (TLC). En M. Volonté y P. Quiroga (Eds.), *Análisis farmacéutico* (pp. 56-77). Editorial de la Universidad de la Plata.

Ramírez, M. E., Mendoza, J. A., Arreola, R. H. y Ordaz, C. (2010). Flavonoides con actividad antiprotozoaria. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41(1), 6-21. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57912960002>

Real Academia Española. (s.f.). Flavo, va. En *Diccionario de la lengua española*. Recuperado en 7 de febrero de 2023. <https://dle.rae.es/flavo>

Rees, A., Dodd, G. y Spencer, J. (2018). The Effects of Flavonoids on Cardiovascular Health: A Review of Human Intervention Trials and Implications for Cerebrovascular Function. *Nutrients*, 10(12), 1852. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu10121852>

Rice-Evans, C. y Packer, L. (1998). *Flavonoids in Health and Disease*. Marcel Dekker, Inc.

Rodríguez De Luna, S., Ramírez-Garza, R. y Serna Saldívar, S. (2020). Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *The Scientific World Journal*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6792069>



- Routray, W. y Orsat, V. (2012). Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5. 409–424
- Ruiz Cruz, S., Chaparro Hernández, S., Ruiz, K. L. H., Cira Chávez, L. A., Estrada Alvarado, M. I., Ortega, L. E. G. y Mata, M. A. L. (2017). *Flavonoids: Important Biocompounds in Food. Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health*. doi: 10.5772/67864
- Sgariglia, M., Sobero, J., Sampietro, D. y Vattuone, M. (2010). Cromatografía: conceptos y aplicaciones. *Arakuku*, 2(1), 1-6.
- Soto, M.L., Moure, A., Domínguez, H. y Parajó, J.C. (2011). Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: A review. *Journal of Food Engineering*, 105, 1–27. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.010>
- Tébar, V. (2013). *Farmacocinética y farmacodinamia*. Fisioterapeutas de Castilla y León.
- Tom, J. (30 de junio de 2021). Espectroscopía UV-Vis: principio, fortalezas y limitaciones y aplicaciones. *Análisis y separaciones*. <https://bit.ly/3YeHLJh>
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A.-H. y Jaremko, M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*, 25(22). <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25225243>
- Valério, D. A., Cunha, T. M., Arakawa, N. S., Lemos, H. P., Da Costa, F. B., Parada, C. A., Ferreira, S. H., Cunha, F. Q. y Verri, W. A., Jr (2007). Anti-inflammatory and analgesic effects of the sesquiterpene lactone budlein A in mice: inhibition of cytokine production-dependent mechanism. *European journal of pharmacology*, 562(1-2), 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.01.029>



- Vallejo-Rosero, Y., Barrios-Correa, L. y Anaya-Gil, J. (2021). La cromatografía en capa fina: una alternativa vigente en la industria farmacéutica. *Revista De Química*, 35(2), 19-25. <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/23788>
- Villanueva, C. y Kross, R. D. (2012). Antioxidant-induced stress. *International journal of molecular sciences*, 13(2), 2091–2109. <https://doi.org/10.3390/ijms13022091>

