



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud  
Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica.**

**TESIS**

**EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS POLIFENÓLICOS DE *Desmodium  
molliculum* “Manayupa”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUIMICO  
FARMACEUTICO.**

**BACHILLER: SOLDEVILLA RAMIREZ, Viviana**

**ASESOR: BARRETO YAYA, Danilo Arturo**

**LIMA – PERU**

**2014**

## **DEDICATORIA**

Para mi madre: Por enseñarme a ver la vida con verdadero entendimiento.  
Por dejar que mis alas se abrieran completamente y; al poder así volar tan  
alto contemplar más allá de las estrellas.

## **AGRADECIMIENTO**

Mi agradecimiento en especial para cada uno de los profesionales y docentes, que con su apoyo, paciencia y dedicación, permitieron realizar este proyecto siendo un aporte a la investigación.

## RESUMEN

En nuestro país, la utilización de las plantas en la medicina tradicional se ha llevado desde tiempos ancestrales, tanto en la cultura andina como en los pueblos amazónicos, contribuyendo así al restablecimiento de la salud.

Los compuestos fenólicos, tienen su origen en el mundo vegetal; químicamente son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas, cumpliendo diferentes funciones como: función estructural a nivel de la pared celular, moléculas de defensa y pigmentos aromatizantes de flores. Estas sustancias químicas, poseen también propiedades antioxidantes, cumpliendo un papel destacado en la prevención de distintas enfermedades.

La manayupa *Desmodium molliculum* es una planta distribuida ampliamente en diversas zonas de nuestro país. Tradicionalmente es utilizada como depurador sanguíneo, desinflamante en enfermedades de la mujer, mejoran el funcionamiento de los riñones, investigaciones nacionales e internacionales, reportan que posee propiedades anticonceptivas.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de extraer los compuestos polifenólicos de *Desmodium molliculum* “Manayupa”. Los extractos fueron obtenidos a partir de las hojas secas, utilizando como solventes: etanol de 96°; agua y mezclas etanol-agua v/v. En los extractos obtenidos fueron cuantificados los compuestos polifenólicos, estableciéndose posteriormente las diferencias o semejanzas cuali-cuantitativas entre ellos.

Los resultados obtenidos demuestran la extracción de compuestos fenólicos, presentes en hojas de manayupa, identificados con reacciones específicas de coloración. El contenido de compuestos fenólicos de los extractos ensayados se cuantificó mediante espectrofotometría Ultravioleta-visible, encontrando el mayor contenido 183,0 mg/100 mL de muestra en el extracto etanolico al 20%.

Se concluye que los extractos de manayupa ensayados contienen compuestos fenólicos, variando el contenido de acuerdo a la proporción de etanol utilizado como solvente.

Palabras claves: Compuestos fenólicos, *Desmodium molliculum*, cuantificación, solvente.

## ABSTRACT

In our country, the use of plants in traditional medicine has been since ancient times, both in culture and in the Andean Amazonian peoples, contributing to the restoration of health.

Phenolic compounds have their origin in the plant world; chemically they are one of the major secondary metabolites of plants, fulfilling different functions such as: structural function at the level of the cell wall, defense molecules flower pigments and flavoring. These chemicals also have antioxidant properties, fulfilling an important role in preventing various diseases paper. The manayupa *Desmodium molliculum* is widely distributed in various parts of our country plant. It is traditionally used as a blood purifier, desinflamante in women's diseases, improve kidney function, national and international research, reported to have contraceptive properties.

This work was performed with the aim of extracting polyphenolic compounds *Desmodium molliculum* "Manayupa". Extracts were obtained from the dried leaves, using as solvents: ethanol 96 °; water and ethanol-water v / v. In the extracts obtained were quantified polyphenolic compounds, subsequently establishing the quali-quantitative differences or similarities between them. The results demonstrate the extraction of phenolic compounds present in leaves manayupa identified specific staining reactions. The content of phenolic compounds of the tested extracts was quantified by UV-visible spectrophotometry, finding the highest content 183.0 mg / 100 mL of sample into the 20% ethanol extract.

We conclude that the tested extracts containing phenolic compounds manayupa content varied according to the proportion of ethanol used as a solvent.

Keywords: phenolic compounds, *Desmodium molliculum*, quantification solvent.

## ÍNDICE

CARÁTULA.....	i
DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
RESUMEN .....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	viii

## CAPÍTULO I:

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1	Descripción de la Realidad Problemática:.....	16
1.2	Delimitación de la Investigación.....	17
1.3	Formulación del Problema.....	17
1.4	Objetivos de la Investigación	
	1.3.1 Objetivo General .....	18
	1.3.1 Objetivos Específicos.....	18
1.5	Hipótesis de la Investigación:	
	1.4.1 Hipótesis General.....	18
	1.4.2 Hipótesis Especificas.....	18

1.6	Justificación e Importancia de la Investigación	19
1.6.1	Justificación de la investigación:.....	19
1.6.2	Importancia de la investigación.....	

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

2.1	Antecedentes de la Investigación	20
2.2	Bases Teóricas:	
2.2.1	Especie vegetal <i>Desmodium molliculum</i> “manayupa”.....	24
2.2.2	Marcha fitoquímica.....	26
2.2.3	Función de los alcaloides en las plantas.....	29
2.3	Definición de Términos Básicos	30

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

3.1	Tipo de Investigación.....	33
3.1.1	Método: .....	33
3.1.2	Técnica: .....	32
3.1.3	Diseño: .....	32
3.2	Población y Muestreo de la Investigación	
3.2.1	Población .....	34
3.2.2	Muestra .....	34
3.3	Variables e Indicadores .....	34
3.4	Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos:	
3.4.1	Técnicas .....	35
3.4.2	Instrumentos .....	35

## CAPÍTULO IV

### PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados .....	36
4.2 Discusión de resultados .....	49
CONCLUSIONES .....	51
RECOMENDACIONES .....	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53
ANEXOS .....	57

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1	Determinación de humedad de hojas de " <i>Desmodium molliculum</i> "manayupa".....	36
Cuadro N° 2	Determinación del rendimiento de sólidos totales obtenidos en cada extracto ensayado.....	37
Cuadro N° 3	Determinación de Flavonoides en extractos de <i>Desmodium molliculum</i> "manayupa".....	40
Cuadro N° 3	Determinación de Taninos en extractos de <i>Desmodium molliculum</i> "manayupa".....	42
Cuadro N° 5	Determinación de Triterpenos y/o Esteroides en extractos de <i>Desmodium molliculum</i> "manayupa".....	43
Cuadro N° 6	Determinación de alcaloides en extractos de <i>Desmodium molliculum</i> "manayupa".....	44
Cuadro N° 7	Contenido de Compuestos Polifenólicos en extractos de <i>Desmodium molliculum</i> "manayupa".....	46

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Figura 1.	Marcha fitoquímica preliminar Fuente. Lock de Ugaz Olga. ....	28
Figura 2	Identificación de Compuestos Fenolicos en extractos de <i>Desmodium molliculum</i> “manayupa” en cromatografía de capa fina.....	45
Grafico 1	Rendimiento de los extractos secos (g) de hojas de <i>Desmodium molliculum</i> “Manayupa”.....	38
Grafico 2	Porcentaje del rendimiento de los extractos secos (%) en los extractos ensayados.....	39
Grafico 3	Resultado de la absorbancia de los diferentes extractos de manayupa.....	47
Grafico 4	Comparación del Contenido de compuestos fenólicos de extractos de <i>Desmodium molliculum</i> “manayupa”.....	48
Figura 3	Planta medicinal <i>Desmodium molliculum</i> “Manayupa”.....	54
Figura 4	Desecación del material vegetal “manayupa”.....	54
Figura 5	Hojas desecadas de manayupa.....	55
Figura 6	Pesado de hojas secas de manayupa.....	55
Figura 7	Preparación de los extractos de manayupa.....	56
Figura 8	Extracción de la muestra.....	56
Figura 9	Extractos de manayupa.....	57
Figura 10	Identificación de flavonoides en extractos de manayupa...	57
Figura 11	Cromatografía en capa fina	58

## INTRODUCCION

El conocimiento de las propiedades medicinales de las plantas está basado en la observación, la experiencia y el conocimiento profundo del entorno. Transmitido de generación en generación y enriquecido por la integración cultural de la población nativa y migrante, este saber ha devenido en la medicina popular y la herboristería actual. Estos conocimientos, debidamente sistematizados, deben contribuir a resolver, en parte, los problemas de salud de la población menos favorecida y más alejada de la modernidad, cuyas posibilidades de curarse son, actualmente, limitadas por el alto costo de los fármacos modernos<sup>1</sup>.

Las plantas y en general los seres vivos sintetizan diversos compuestos para su funcionamiento (metabolitos primarios) como los aminoácidos, carbohidratos, lípidos, glicéridos, ácidos nucleicos, y compuestos que intervienen en sus interacciones ecológicas con el ambiente (metabolitos secundarios) como terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides<sup>2</sup>.

Para un buen uso de las plantas medicinales es necesario conocer correctamente las especies utilizadas, la forma de preparación y dosificación, la extracción de los compuestos químicos, así como los cuidados que deben observarse. Muchos de los compuestos presentes en las plantas actúan de modo sinérgico, de modo que la combinación de dos o más especies es condición necesaria para obtener efectos benéficos<sup>3</sup>.

Los compuestos polifenólicos son un amplio grupo de compuestos, producto del metabolismo secundario de las plantas, donde desempeñan diversas funciones de protección al ataque de patógenos o herbívoros y son pigmentos que atraen a los polinizadores. Poseen estructuras con anillos aromáticos y dobles enlaces conjugados.

La extracción dependerá de la naturaleza química y del grado de polimerización de los propios compuestos, del método de extracción

(polaridad de los solventes), del tamaño de partícula de la muestra y de las sustancias que pueden ejercer un efecto de interferencia. A veces se requieren pasos adicionales o previos a la extracción para eliminar sustancias no deseadas que pueden interferir en nuestros análisis (grasa, carbohidratos, clorofilas) normalmente mediante extracción en fase sólida<sup>5</sup>.

En general cualquier proceso está basado en una primera extracción con disolventes orgánicos o la mezcla de algunos de ellos (metanol, etanol, propanol, acetona, agua, dimetilformamida, acetato de etilo) obteniéndose en el extracto una mezcla de diferentes compuestos polifenólicos<sup>6</sup>. Además de los disolventes, también el tiempo de extracción es determinante a la hora de obtener un mayor rendimiento. Se han reportado tiempos de extracción desde 1 minuto a 24 horas<sup>7-8</sup>, teniendo en cuenta que largos periodos de extracción pueden producir oxidaciones, que se minimizan añadiendo agentes reductores<sup>9</sup>.

Importantes investigaciones refieren que los compuestos polifenólicos presentes en las plantas medicinales que los contienen, son responsables de actividad antiinflamatoria, antioxidante, cardiovascular, etc., entre estas plantas medicinales tenemos a la manayupa *Desmodium molliculum*, planta, silvestre, herbácea rastrera andina que crece bajo la forma de arbustos multi-ramificados hasta 50 centímetros de alto óptimamente entre los 2,000 3,000 metros de altura. Sus delgados y débiles tallos permiten expandirse horizontalmente cubriendo con su desarrollo mayores áreas de terreno. Sin embargo se adapta y desarrolla en zonas de menos altura en presencia de clima frío o templado. Investigaciones realizadas en nuestro país refieren que tiene muchas propiedades medicinales destacando entre ellas por su acción como depurador sanguíneo, desinflamante en enfermedades de la mujer, coadyuva el correcto funcionamiento de los riñones y tiene propiedades anticonceptivas<sup>10</sup>.

En este contexto, se realizó la investigación con la finalidad de: extraer los compuestos compuestos polifenólicos de las hojas de *Desmodium*

*molliculum* con diferentes proporciones de solventes (Etanol-agua) y cuantificar los compuestos polifenólicos totales, y establecer diferencias o semejanzas cuali-cuantitativas entre los diferentes extractos de hoja de manayupa obtenidos. Planteándonos la hipótesis siguiente: el contenido de compuestos polifenólicos de las hojas de manayupa difiere, según el solvente empleado.

El estudio experimental de nivel básico, de diseño cuantitativo, transversal, se realizó en el laboratorio de Farmacología de la Universidad Alas Peruanas.

En el capítulo I: Planteamiento del problema, se mencionan los aspectos que nos motivó en realizar la investigación, teniendo en cuenta el uso de las plantas en la medicina tradicional y las propiedades que atribuidas a la manayupa *Desmodium molliculum*, determinándose la extracción de los compuestos polifenólicos.

El capítulo II: Marco teórico, citamos las investigaciones realizadas en nuestro país y en el extranjero, las cuales nos demuestran la importancia que tienen los compuestos fenólicos en la salud y las propiedades medicinales de la manayupa, resultado de investigaciones publicadas en revistas; para el mejor entendimiento se definieron términos básicos, los cuales colaboraron con el cumplimiento de nuestros objetivos planteados.

En el capítulo III: Se detalla la metodología de la investigación y el diseño empleado, apoyado en la información bibliográfica, de fuentes primarias, secundarias y terciarias, documentación disponible en la biblioteca de nuestra universidad y la base de datos EBSCO.

En el capítulo IV: Presentación, análisis e interpretación de resultados, se presentan los hallazgos encontrados en la extracción de los compuestos fenólicos de las hojas de manayupa, mediante las diferentes técnicas, comparándolas también con otras investigaciones realizadas y que guardan relación con nuestro trabajo.

En el capítulo V: Conclusiones, se aprecia el cumplimiento de nuestro objetivo general, el cual fue extraer los compuestos fenólicos en hojas de manayupa, con diferentes solventes, comprobándose de esta manera nuestra hipótesis planteada al momento de iniciar este trabajo.

Esperamos de esta manera que el presente trabajo sea un aporte para el conocimiento de esta valiosa planta medicinal, así como que sea reconocida la parte experimental y documental.

## **CAPÍTULO I:**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.1. Descripción de la Realidad Problemática:**

La riqueza de recursos terapéuticos naturales y el conocimiento popular de sus aplicaciones basado únicamente en la experiencia, han permitido a los pobladores de nuestro país la utilización de plantas medicinales principalmente por las condiciones económicas, por algún tiempo estas prácticas fueron desplazadas por la medicina convencional, debido a la inexistencia de metodología que sustenten el conocimiento ancestral, la recuperación de estos conocimientos hace necesario conocer los compuestos químicos que les confiere las propiedades curativas, asegurando su uso<sup>11</sup>.

La manayupa es una planta muy distribuida en nuestro país, posee interesantes propiedades medicinales como: depurador sanguíneo, para mejorar el funcionamiento de los riñones, entre otras<sup>12-13</sup>. Si bien se han realizado numerosos estudios en nuestro país y en el extranjero que comprueban las propiedades de los extractos de manayupa, aún existe el problema adicional al extraer los compuestos fenólicos, por lo que con el presente trabajo se pretende dar a conocer los resultados de extracción y cuantificación de compuestos polifenólicos utilizando etanol, agua y mezclas etanol-agua en diferentes proporciones.

#### **1.2. Delimitación de la Investigación.**

##### **1.2.1 Delimitación Espacial**

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Farmacología de nuestra casa de estudios.

### **1.2.2 Delimitación Temporal**

La investigación se realizó entre los meses de Mayo a Setiembre del año 2014.

### **1.2.3 Delimitación Social**

La investigación beneficia a todas las personas de bajos recursos económicos siendo estas plantas una alternativa rápida y eficaz para atenuar sus males, también para aquellos pacientes que no toleran un medicamento.

## **1.3. Formulación del Problema:**

En el proceso de extracción de los metabolitos se pueden emplear diferentes solventes como: éter dietílico, cloroformo, etanol, agua; puros o en mezcla, los que modifican el pH del medio con el fin de obtener metabolitos secundarios de acuerdo con su solubilidad<sup>14</sup>.

Con el presente estudio hemos pretendido responder lo siguiente: ¿El contenido de compuestos polifenólicos de hojas de *Desmodium molliculum* Manayupa, varía de acuerdo al solvente empleado?

## **1.4. Objetivos de la Investigación:**

### **1.4.1. Objetivo general**

Extraer los compuestos polifenólicos de *Desmodium molliculum* “Manayupa”, a partir de las hojas.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Obtener los compuestos polifenólicos presentes en hojas de *Desmodium molliculum* “manayupa”, utilizando etanol, agua y mezclas hidroalcohólicas como solventes.

- Cuantificar los compuestos polifenólicos de las hojas de *Desmodium molliculum* “Manayupa”, en los extractos obtenidos.
- Establecer diferencias o semejanzas cuali-cuantitativas entre los diferentes extractos de hoja de manayupa obtenidos con los solventes ensayados.

## **1.5. Hipótesis de la Investigación**

### **1.5.1. Hipótesis general**

El Contenido de compuestos polifenólicos de los extractos de hojas de manayupa, varía de acuerdo a las características del solvente utilizado.

### **1.5.2. Hipótesis específicas**

Los extractos alcohólicos proveen mejores rendimientos de polifenoles totales, que los extractos acuosos e hidroalcoholicos.

Existen diferencias cuali-cuantitativas en el contenido de compuestos polifenólicos entre extractos obtenidos.

## **1.6. Justificación e Importancia de la Investigación**

### **1.6.1. Justificación de la investigación:**

Actualmente el uso indiscriminado de las plantas medicinales por parte de personas empíricas, puede acarrear ciertos malestares en la población pues se llega a lucrar con ciertas propiedades medicinales que en algunos casos no corresponden a las plantas. Esto además de tener

consecuencias en el deterioro de la salud, ocasiona también desequilibrios en la economía familiar, pues al consumir plantas medicinales sin la orientación de un profesional, pueden manifestarse reacciones alérgicas y efectos adversos que han de ser solucionados en un centro hospitalario.

Al realizar este trabajo, queremos especialistas interesados que aporten un aspecto técnico sobre la adecuada extracción de compuestos polifenólicos de la manayupa, de esta manera se contribuye a conocer las propiedades químicas que tiene esta planta a la cual le atribuye múltiples beneficios medicinales.

#### **1.6.2. Importancia de la investigación**

Para la extracción de los compuestos fenólicos de las hojas de manayupa, compilamos técnicas de laboratorio utilizados y reportados en diferentes investigaciones, por lo que este trabajo contribuirá al conocimiento de estudiantes y profesionales que tienen interés por la investigación de las propiedades químicas de las plantas medicinales; sobre todo en la extracción de compuestos fenólicos, los cuales son solubles en solventes orgánicos, en ácidos carboxílicos y por lo tanto solubles también en agua. Estos compuestos participan en muchas funciones en la planta como: defensa ante herbívoros y patógenos, otros proveen un soporte mecánico a las plantas y en algunos casos actúan como agentes alelopáticos.

## CAPÍTULO II:

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de la Investigación:

Las plantas medicinales poseen muchas propiedades medicinales y los que hemos recibido una formación en las ciencias farmacéuticas nos vemos involucrados en su constante investigación pues son las plantas los principales proveedores para un tratamiento denominado como medicina tradicional.

Un análisis químico en las plantas nos permitirá conocer cual o cuales son los componentes químicos que aportan estas cualidades curativas, estos estudios donde se encuentran la metodología y procedimientos para aislar estos compuestos químicos, han sido reportados en diversos estudios realizados en la manayupa.

A continuación citaremos algunos de estos estudios, los cuales guardan una relación directa y nos motivaron para nuestro trabajo:

Alvarez M; Quispe G; Arnao A y Suarez S. (2007)<sup>14</sup> en: Estudio preliminar de la actividad antioxidante de especies vegetales de uso tradicional del Valle del Mantaro; evaluaron la capacidad antioxidante de 6 especies vegetales propias del Valle del Mantaro, utilizados por su uso en la medicina tradicional. Las plantas analizadas fueron *Plantago major* L. (llantén), *Oenothera rosea* Ait.(chupasangre), *Equisetum bogotensis* L.(cola de caballo), *Verbena litoralis* H.B.K.(verbena ), *Rosmarinus officinalis* L. (romero) y *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. (manayupa). La inducción de estrés oxidativo la realizaron bajo luz UV por 30 minutos y con un medio de Fe<sup>2+</sup>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La capacidad antioxidante se midió empleando la técnica de la formación del complejo MDA-TBA. Encontrando que 243,31 mg del extracto de manayupa tiene 22,67% de inhibición de peroxidación UV,

con un equivalente de protección de 2,45; % inhibición  $Fe^{2+}$ - $H_2O_2$  de 35,10 con un equivalente de protección de 3,83.

Lozano N. y col. (2001)<sup>15</sup> en Evaluación fitoquímica y actividad biológica de *Desmodium molliculum* ( H.B.K.) D.C. ( Manayupa), evaluaron tres muestras de *Desmodium molliculum* ( H.B.K. ) D.C. (Manayupa ), evaluaron tres muestras de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. (Manayupa) procedentes de Jaén, Cajamarca ( Muestra E1), Huánuco ( Muestra E2 ) Y Huancayo, Junín ( Muestra E3), conocida también como "Runa manayupa ", la cual es utilizada como diurética, depurativa de la sangre, antihemorrágica, antidisentérica, antiinflamatoria de las vías urinarias, hígado y riñones. Del estudio fitoquímico, se observaron que las tres muestras en estudio, presentan una considerable cantidad de metabolitos secundarios, destacándose una cantidad apreciable de flavonoides.

De las evaluaciones del efecto antiinflamatorio, por administración peroral, la muestra E3, mostró mayor actividad que E2 y E1, ( % de eficiencia antiinflamatoria = 36,2) muy cercano a la actividad de LA dexametasona. En tanto que en una administración tópica el extracto E1, mostró mayor actividad antiinflamatoria. (% de eficiencia antiinflamatoria = 35,7)

Respecto al efecto cicatrizante por vía peroral, el extracto E3 mostró mayor actividad ( % de eficiencia cicatrizante = 28,1), mientras que por vía tópica, sobre lesiones inducidas en el lomo de ratón E1 mostró mayor actividad (% de eficiencia cicatrizante = 31,6).

El estudio hematológico mostró que los elementos mononucleares (linfocitos, monocitos) estuvieron en mayor cantidad al terminar la evaluación antiinflamatoria subcrónica de 21 días de tratamiento con E1. Concluyendo que la muestra procedente de Jaén (Cajamarca) posee la mejor actividad biológica evaluada.

Millones E. Acero-Carrión B.; Torres L. (2012)<sup>10</sup>. En el estudio Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* en el modelo murino de asma, reportaron que los flavonoides, presentes en *D. molliculum*, son compuestos polifenoles de bajo peso molecular que han probado tener efectos contra la inflamación del árbol bronquial, disminuyen la respuesta de mastocitos, reducen en número de eosinófilos, factor de transcripción NFκB, inhibición de linfocitos Th2 y la concentración de IL- 4, IL- 5, IL- 6 e IL-8.

Acaro F. (2013)<sup>16</sup>, realizó un estudio para determinar el efecto anticonceptivo y postcoital del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (HBK).DC en ratas hembras adultas Holtzmann. Las hojas las recolectaron en el valle de Baños del Inca, departamento de Cajamarca, la cual es utilizada como diurética, depurativa de la sangre, antihemorrágica, antiinflamatoria de las vías urinarias, hígado y riñones. Utilizaron 80 ratas hembras fueron seleccionadas aleatoriamente de acuerdo a los criterios de inclusión, y divididas en 2 grandes grupos, cada uno conformada por 5 subgrupos de 8 ratas hembras y ratas machos para el emparejamiento (1macho: 2 hembras). **Grupo 1:** 40 ratas para la evaluación del efecto anticonceptivo del extracto de *Desmodium molliculum* a una solución 100mg/ml vía oral en dosis 200mg/kg, 600mg/kg y 1000mg/kg. Utilizaron dos grupos como controles suero fisiológico y Medroxiprogesterona en dosis 15mg/kg; **Grupo 2:** 40 ratas para la evaluación del efecto postcoital del extracto *Desmodium molliculum* a una solución de 100mg/ml vía oral a dosis 200mg/kg, 600mg/kg y 1000mg/kg. Se utilizaron dos grupos control suero fisiológico y Levonorgestrel a dosis de 50ug/kg. El efecto anticonceptivo lo evaluaron mediante la cuantificación de los indicadores gravidez, número de implantaciones y número de fetos; el efecto post-coital se evaluó los indicadores gravidez, número de implantaciones, número

de fetos vivos y número de fetos muertos. Del screening fitoquímico se observa que las muestras en estudio, presentan una considerable cantidad de metabolitos secundarios, destacándose cantidades apreciables de flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides, alcaloides y taninos estuvieron en mayor cantidad en el extracto etanólico. De las evaluaciones las ratas que recibieron la solución alcohólica a dosis de 200mg/kg, 600mg/kg, 1000mg/kg disminuyeron la gravidez, el número fetos e implantaciones en la actividad anticonceptiva y poscoital. Concluyendo que en condiciones experimentales los resultados encontrados demuestran que el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* tiene efecto anticonceptivo y postcoital en ratas hembras Holtzmann.

Oscanoa J. (2005)<sup>17</sup>. Estudio Fármaco – Botánico de *Desmodium molliculum* (manayupa). Reporta que la baja aceptabilidad y calidad (digestibilidad de la proteína y la pared celular) de *D. molliculum* ha sido asociada con su alto contenido de taninos condensados. Sin embargo, hay evidencia de que los niveles de taninos de *D. molliculum* pueden variar entre genotipos y además ser afectado por condiciones edáficas y climáticas.

Esteves R, Flores D, y col.(2002)<sup>18</sup>, realizaron estudios preliminares del efecto del extracto alcohólico de *Desmodium adscendens* (amor seco) sobre la fecundidad en ratas hembras. Se propusieron Determinar el efecto anticonceptivo del extracto alcohólico de *Desmodium adscendens* en ratas.

La inhibición de la fecundidad en el grupo “control negativo” fue 0%, mientras que en los grupos control positivo y problema fue 100%. Conclusiones: En las condiciones experimentales, que ensayaron, el *Desmodium adscendens* tiene efecto anticonceptivo en ratas hembras.

En el año (2012), Konan M.; et al<sup>19</sup>. En Cuantificación de fenoles totales y flavonoides de *Desmodium adscendens* (Sw.) DC. (Papillionaceae) y proyección de su capacidad antioxidante. Konan Koffi Marcel, estudió la actividad antioxidante de extractos de polifenoles de *Desmodium ascendens*. En este trabajo evaluó por espectrometría, hallando que los niveles más altos de polifenoles totales se encuentra en hojas (3768,33 µg/g) comparado con los tallos (2153,67 µg/g). Reportó que había 0,077% de flavonoides en hojas; mientras que en los tallos había 0,02%.

## 2.2 Bases Teóricas:

### 2.2.1 Especie vegetal *Desmodium molliculum* “manayupa”

#### a) Clasificación taxonómica:

Reino	:	Plantae
Subreino	:	Tracheobionta
Super división	:	Spermatophyta
División	:	Angiospermas
Clase	:	Dicotiledoneas
Subclase	:	Arquiclamideas
Orden	:	Leguminoseae
Familia	:	Fabaceae – papiloneaceae
Subfamilia	:	Faboideae
Tribu	:	Desmoidieae
Género	:	Desmodium
Especie	:	Desmodium molliculum (H.B.K) D.C.
Nombre común	:	Manayupa
Otras denominaciones	:	pie de perro; amor seco; barba de boi, pendiga piojos; margarita; pega-pega.

## **b) Localización**

Esta planta se desarrolla en climas fríos y alturas que van desde los 2800 hasta 3200 metros sobre el nivel del mar, encontrándose además del Perú en México, Guatemala, Colombia y Venezuela.

En nuestro País crece en las zonas altas de la Sierra en Ayacucho, Cajamarca, Cuzco, Huánuco, Junín, Lima, La libertad, Apurímac, Huaraz.

## **c) Descripción de la planta.**

*Desmodium molliculum* (manayupa) es una planta herbácea rastrera andina mide aproximadamente 50 centímetros de altura. Tiene las flores rojas pequeñas; brillantes. Crece en áreas pequeñas de las elevaciones de 1000 a 3000 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m); sus delgados y débiles tallos permiten expandirse horizontalmente cubriendo con su desarrollo mayores áreas de terreno. Sin embargo se adapta y desarrolla en zonas de menos altura en presencia de clima frío o templado.

## **d) Componentes Químicos**

Esteroides, Triterpenoides, carotenoides, aminoácidos, glucosa, ácido cinámico, almidón, gomas, vitamina K, fenoles, resinas, riboflavina, tiamina, fructuosa, taninos, mucílagos y ácido gálico.

Los estudios fitoquímicos de esta planta han demostrado que contiene ácido Cinnámico y ácido Gálico así como mucílagos, taninos, almidón, gomas, sales de calcio y aluminio, esteroides, triterpenoides, carotenoides, vitamina K, riboflavina, tiamina y ceras.

La planta seca, tiene un alto contenido en proteínas y minerales: azufre, calcio, cobre, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, potasio, silicio, sodio, zinc.

Materia grasa compuesta por: ácidos laurico, mirístico, palmitico, esteárico, oleico, linoleico, gammalinolenico, araquidónico.

#### **e) Partes útiles de la planta.**

Hojas y tallo.

#### **2.2.2 Marcha fitoquímica**

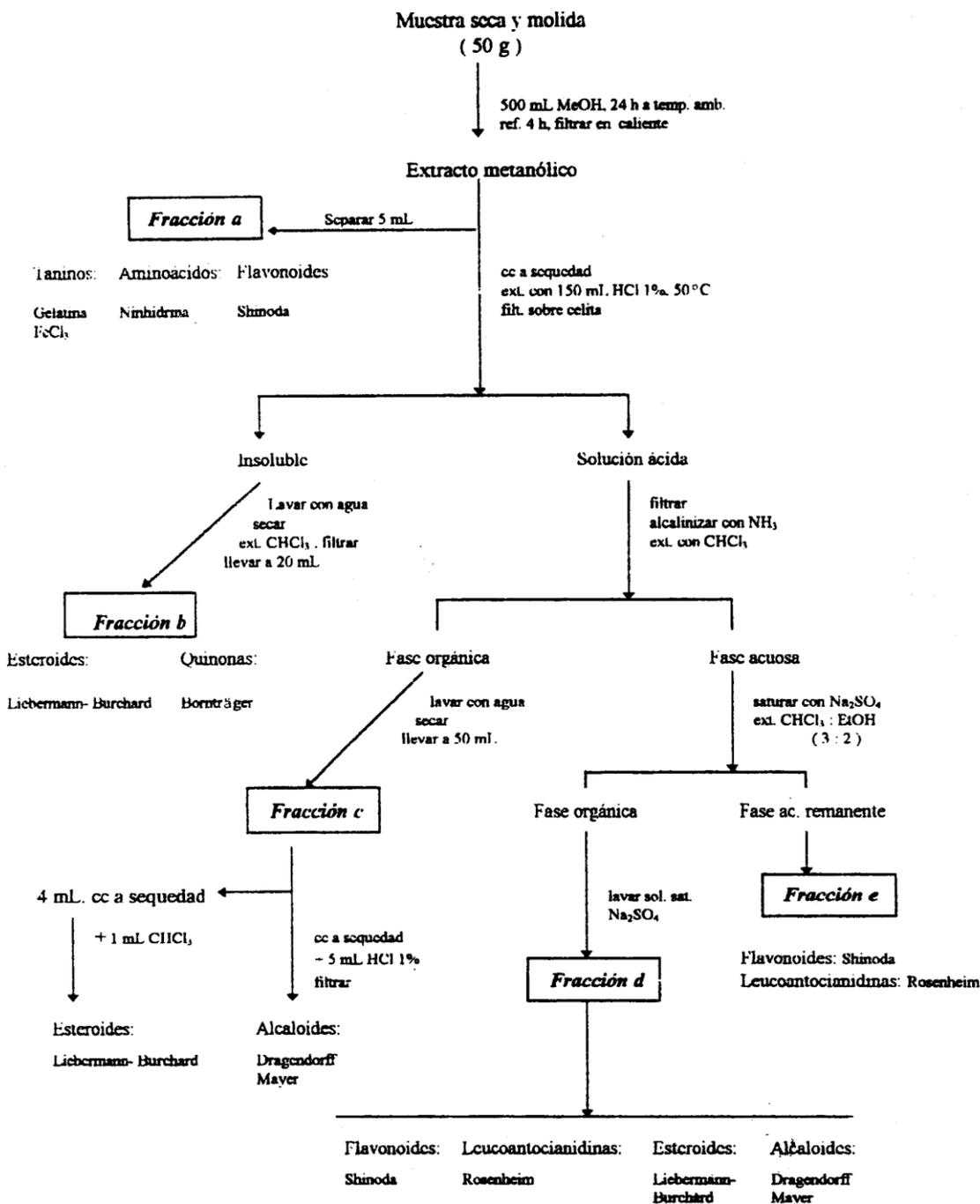
La Fitoquímica es una disciplina científica que tiene como objeto el aislamiento, análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias producidas por los vegetales.

Las plantas producen una diversidad de sustancias, producto del metabolismo secundario, algunas responsables de la coloración y aromas de flores y frutos, otras vinculadas con interacciones ecológicas, como es el caso de la atracción de polinizadores.

Actualmente, se ha demostrado que principalmente la mayoría de ellos participan en el mecanismo de defensa de las plantas.

Se ha desarrollado una serie de métodos para la detección preliminar de los diferentes químicos en las plantas, basados en la extracción de estos con solventes apropiados y en la aplicación de pruebas de coloración. Un esquema sencillo se presenta en la figura 1.

Figura 1. Marcha fitoquímica preliminar



Fuente. Lock de Ugaz Olga<sup>23</sup>. Métodos de estudio de productos naturales. 1994.

### 2.2.3 Función de los alcaloides en las plantas

La función de los alcaloides en las plantas no es aun clara, existen algunas sugerencias sobre el “rol” que juegan estas sustancias en los vegetales como:

En algunos casos los alcaloides pueden servir como productos de almacenamiento del nitrógeno no metabolizado o para transporte del mismo; en el caso de las Solanaceas midriáticas, los ésteres del tropano se forman en las raíces y son transportados a las partes aéreas donde pueden ser hidrolizados.

La micro química ha permitido mostrar en forma general, que los alcaloides son localizados en los tejidos periféricos de los diferentes órganos de la planta, es decir en el recubrimiento de las semillas, corteza del tallo, raíz o fruto y en la epidermis de la hoja; esto nos permite pensar que los alcaloides cumplen una importante función como es la de proteger a la planta, por su sabor amargo de estos, del ataque de insectos.

Los alcaloides pueden servir de reguladores del crecimiento, se ha demostrado que los alcaloides derivados de la putrescina se incrementan notablemente en algunas plantas cuando se encuentran en suelos deficientes de potasio.

Mediante técnicas biotecnológicas, las plantas que normalmente acumulan alcaloides en las partes aéreas, como es el caso de la *Nicotiana* y *Daturas*, se han producido sin alcaloides, la pérdida de alcaloides en el vástago, no impide el desarrollo de la planta, lo cual sugiere que los alcaloides no son esenciales para los vegetales.

Si bien, la presencia de alcaloides no es vital para la planta, estos deben de participar en secuencias metabólicas y no son solamente productos de desecho del metabolismo.

#### **a) Reconocimiento de los alcaloides**

Las técnicas de reconocimiento son basadas en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos), de combinarse con el yodo y metales pesados como bismuto, mercurio, tungsteno formando precipitados; estos ensayos preliminares se pueden realizar en el laboratorio o en el campo.

En la práctica, se utilizan reactivos generales para detectar alcaloides como: la solución de yodo-yoduro de potasio (Reactivo de Wagner), mercurio tetrayoduro de potasio (reactivo de Mayer), tetrayodo bismuto de potasio (reactivo de Dragendorff), solución de ácido pícrico (reactivo de Hager), ácido sílico túngtico (reactivo de Bertrand), *p*-dimetilamino benzaldehído (reactivo de Ehrlich); nitración de alcaloides (reacción de Vitali-Morin se usa para alcaloides en estado base).

### **2.3 Definición de Términos Básicos:**

#### **1. Extracto:**

Producto que contiene los compuestos químicos obtenidos por separación del material original.

#### **2. Planta medicinal:**

Una planta medicinal es un recurso, cuya parte o extractos se emplean como droga medicinal en el tratamiento de alguna afección. La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de *droga vegetal*, y puede suministrarse bajo diferentes

formas galénicas: cápsulas, comprimidos, crema, decocción, elixir, infusión, jarabe, tintura, ungüento, etc.

### **3. Compuestos fenólicos:**

Los fenoles o compuestos fenólicos son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido a al menos un grupo funcional. Muchos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas, aquellos productos biosintetizados en las plantas que poseen la característica biológica de ser productos secundarios de su metabolismo.

### **4. Manayupa:**

Planta medicinal que se desarrolla en climas fríos y alturas que van desde los 2800 hasta 3200 metros sobre el nivel del mar, encontrándose además del Perú en México, Guatemala, Colombia y Venezuela.

### **5. Análisis químico:**

Técnicas que se emplean para determinar la composición química de un material, es decir, el objetivo del análisis químico es conocer qué sustancias y en qué cantidad componen un determinado material.

### **6. Anticonceptivo:**

Agente que tiene actividad anticonceptiva de naturaleza farmacológica, principalmente con acciones de carácter hormonal o antihormonal que llegan a modificar de manera sustancial los mecanismos de ovulación, fecundación o implantación del huevo fecundado.

### **7. Medicina Tradicional o Folklórica:**

Es el conjunto de conocimiento y prácticas que tiene como fundamento el saber médico ancestral de la población modificado a lo largo del tiempo. Es una práctica que se transmite por la tradición

familiar o comunitaria, que tienen sus propios agentes de salud y sus ideas específicas sobre la enfermedad y curación.

#### **8. Depuración orgánica:**

Depuración o desintoxicación es el proceso mediante el cual el organismo elimina las toxinas exógenas ó endógenas, que alteran el equilibrio funcional del individuo alterando el estado de salud. Muchas de estas toxinas son acumuladas durante años en nuestro organismo y acaban por propiciar una serie de enfermedades. Síntomas inespecíficos (insomnio, cefalea, cansancio, hormigueos, manchas en la cara y el cuerpo, etc.), pueden ser manifestaciones de intoxicación reciente o acumulada.

#### **9. Toxinas exógenas:**

Son las de origen externo. Ingresan y se incorporan al organismo a través de la respiración (gases de las fábricas y vehículos, humo de las chimeneas, de los cigarrillos, etc), mediante la piel y mucosas (pinturas, insecticidas, etc.) y, por vía digestiva (alcohol, colorantes artificiales, carnes rojas en exceso, preservantes, fármacos, entre otros.

#### **10. Toxinas endógenas:**

Son sustancias elaboradas en nuestro organismo. Pueden estar relacionadas con algunas enfermedades infecciosas como la fiebre tifoidea, hepatitis, etc. y, por enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus, la uremia u otras. También la adrenalina y noradrenalina liberadas en cantidades exageradas por la médula de la glándula suprarrenal como producto del stress y estados de ansiedad, constituyen endotoxinas que a la larga afectan la salud de la persona.

## CAPÍTULO III:

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1 Diseño de la investigación

##### 3.1.1 Tipo de Investigación

El presente estudio corresponde a una investigación experimental de nivel básico.

Investigación experimental, porque se crearon situaciones que nos permitieron observar cómo opera la variable dependiente sobre la variable independiente.

Nivel básico, realizada para mejorar la obtención de compuestos fenólicos presentes en la planta medicinal manayupa.

##### 3.1.2 Método:

Inductivo; porque a partir de los fenómenos observados se logró evaluar el contenido de compuestos fenólicos en extracto ensayado.

Cuantitativo; porque las técnicas utilizadas nos proporcionaron datos para evaluar el contenido de compuestos polifenólicos en cada extracto de *Desmodium molliculum* “manayupa”.

Transversal; porque recolectamos los datos en un solo momento, en un tiempo dado.

#### 3.2 Población y Muestreo de la Investigación

##### 3.3.1 Población

Conformada por hojas de *Desmodium molliculum* “manayupa”.

### 3.2.2 Muestra

La muestra resultado de un muestreo no probabilístico intencionado o de conveniencia, estuvo conformada por 500 g de hojas de *Desmodium molliculum* "manayupa", con posible contenido de compuestos polifenólicos.

## 3.3 Variables e Indicadores

### 3.3.1 Variable Independiente:

VARIABLE (X)	INDICADORES
Extracto de hojas de manayupa	Compuestos polifenólicos totales (flavonoides, taninos, fenoles)

### 3.3.2 Variable Dependiente:

VARIABLE (Y)	INDICADORES
Solvente: etanol, agua y mezclas hidroalcohólicas	Concentración de compuestos polifenólicos totales en mg/g de droga.

## 3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos:

### 3.4.1 Técnica:

Se utilizó la observación como técnica de recolección de datos.

### **3.4.2 Instrumentos**

Se elaboró una ficha de observación en la que se anotaron los fenómenos observados.

### **3.4.3 Equipos de Laboratorio**

- Estufa
- Balanza digital
- Cámara UV (Lámpara UV)
- Espectrofotómetro UV de barrido

## CAPITULO IV

### Presentación, Análisis e Interpretación de Resultados

#### 4.1 Resultados

Previa a la utilización de los vegetales, es recomendable realizar pruebas de control de calidad, en el presente estudio se realizó la determinación el porcentaje de humedad, por el método gravimétrico.

**Cuadro N° 1. Determinación de humedad de hojas de “*Desmodium molliculum*” “manayupa”**

Ensayos	% de Humedad
1	7,3
2	7,2
3	7,2
<b>Promedio</b>	<b>7,2</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>0,047</b>

Fuente y elaboración propia.

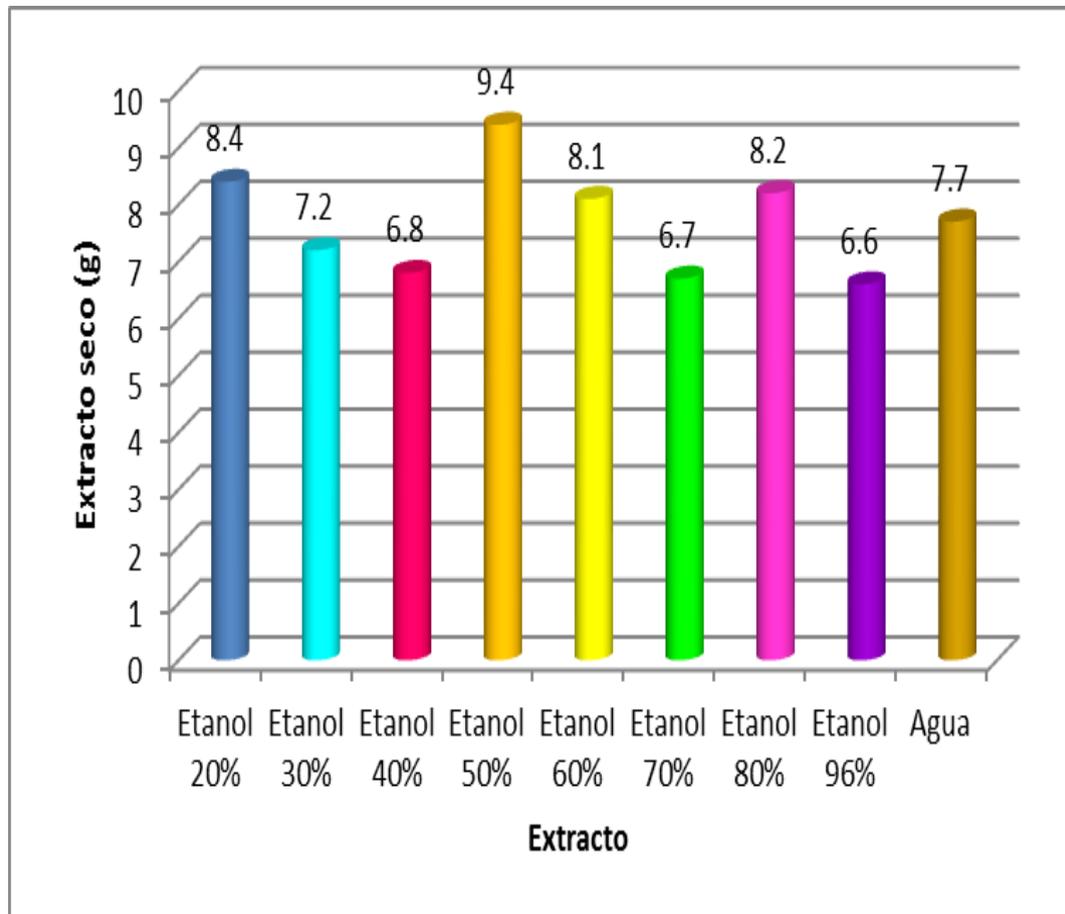
Los valores obtenidos para este parámetro para el material vegetal ( $7,2 \pm 0,047$ ) resultan adecuados para garantizar la estabilidad del material vegetal, inferiores al valor de 10% exigido en las normativas nacionales e internacionales.

**Cuadro N° 2. Determinación del rendimiento de solidos totales obtenidos en cada extracto ensayado**

<b>Concentración de Solvente</b>	<b>Peso de hojas secas (g)</b>	<b>Peso de extracto seco (g)</b>	<b>Rendimiento de solidos totales (%)</b>
Agua	50	7,7	15,4
Etanol 20%	50	8,4	16,8
Etanol 30%	50	7,2	14,4
Etanol 40%	50	6,8	13,6
Etanol 50%	50	9,4	18,8
Etanol 60%	50	8,1	16,2
Etanol 70%	50	6,7	13,4
Etanol 80%	50	8,2	16,4
Etanol 96%	50	6,6	13,2

Los volúmenes finales de los extractos obtenidos, se concentraron a extractos secos. Los pesos de los extractos secos obtenidos, se describen en el cuadro 2 y comparan en los gráficos 1 y 2, observándose que no existe diferencia en los pesos ni en los porcentajes de sólidos totales entre ellos.

**Grafico 1. Rendimiento de los extractos secos (g) de hojas de *Desmodium molliculum* “Manayupa”.**



**Cuadro N° 3. Determinación de Flavonoides en extractos de *Desmodium molliculum* “manayupa”.**

<b>Extracto</b>	<b>Indicador</b>	<b>Resultado</b>
Etanol 20%	Anaranjado	+
Etanol 30%	Anaranjado	+
Etanol 40%	Rosa –Rojizo	++
Etanol 50%	Rosa –Rojizo	++
Etanol 60%	Rosa –Rojizo	++
Etanol 70%	Rosa –Rojizo	++
Etanol 80%	Rosa –Rojizo	++
Etanol 96%	Rosa –Rojizo	++
Agua	Anaranjado	+

Fuente y elaboración propia.

Leyenda: (+++) Abundante, (++) moderado, (+) bajo, (-) ausente

Para el reconocimiento de este tipo de compuesto se realizó con la reacción de shinoda, que permite distinguir algunos tipos de flavonoides: coloración naranja con las flavonas, rojo cerezo para los flavonoles, violeta para las flavononas. Esta reacción se fundamenta en que el zinc al reaccionar con HCl cc. Genera hidrogeno que se produce por reducción el ión flavilo de color rojo escarlata que varía desde el rosa muy débil hasta rojo escarlata. Todos los flavonoides, excepto chalconas, auronas e isoflavonas, dan positiva esta reacción.

Se realizaron extracciones con etanol, agua y mezclas hidroalcoholicas de diferentes porcentajes, manteniendo las mismas condiciones (cantidad, tiempo y temperatura) en todas las extracciones.

Desde el punto de vista cualitativo no se observaron diferencias en cuanto a la presencia de flavonoides observando color indicado en la reacción, aunque en casos como el extracto acuoso, etanólico al 20 y 30%, la coloración es menos intensas, posiblemente debido a la menor cantidad de este compuesto.

**Cuadro N° 4. Determinación de Taninos en extractos de *Desmodium molliculum* “manayupa”.**

<b>Extracto</b>	<b>Indicador</b>	<b>Resultado</b>
Etanol 20%	Precipitado	+
Etanol 30%	Precipitado	+
Etanol 40%	Precipitado	+
Etanol 50%	Precipitado	+
Etanol 60%	Precipitado	+
Etanol 70%	Precipitado	+
Etanol 80%	Precipitado	+
Etanol 96%	Precipitado	+
Agua	-	-

Fuente y elaboración propia.

Leyenda: (+++) Abundante, (++) moderado, (+) bajo, (-) ausente

El reactivo gelatina-sal precipita los taninos presentes en extractos vegetales, en el cuadro 3 se muestran los resultados positivos para los extractos de manayupa, excepto el extracto acuoso.

**Cuadro N°5. Determinación de Triterpenos y/o Esteroides en extractos de *Desmodium molliculum* “manayupa”.**

<b>Extracto</b>	<b>Indicador</b>	<b>Resultado</b>
Etanol 20%	Verde	+
Etanol 30%	Verde	+
Etanol 40%	Verde	+
Etanol 50%	Verde	+
Etanol 60%	Azul petróleo	++
Etanol 70%	Azul petróleo	++
Etanol 80%	Azul petróleo	++
Etanol 96%	Verde	++
Agua	Verde	+

Fuente y elaboración propia.

Leyenda: (+++) Abundante, (++) moderado, (+) bajo, (-) ausente

En los ensayos con ácido acético catalizados con ácido sulfúrico concentrado (reacción de Liebermann), para la identificación de triterpenoides y/o esteroides dio un resultado positivo (+) por el color verde, en los extractos hidroalcohólico al 60, 70 y 80% se observaron resultados francamente positivos (++) por el color azul petróleo. Esto confirmaría la presencia de triterpenoides y/o esteroides.

**Cuadro N°6: Determinación de alcaloides en extractos de *Desmodium molliculum* “manayupa”.**

<b>Extracto</b>	<b>Indicador</b>	<b>Resultado</b>
Etanol 20%	Precipitado	+
Etanol 30%	Precipitado	+
Etanol 40%	Precipitado	+
Etanol 50%	Precipitado	+
Etanol 60%	Precipitado	+
Etanol 70%	Precipitado	+
Etanol 80%	Precipitado	+
Etanol 96%	-	-
Agua	-	-

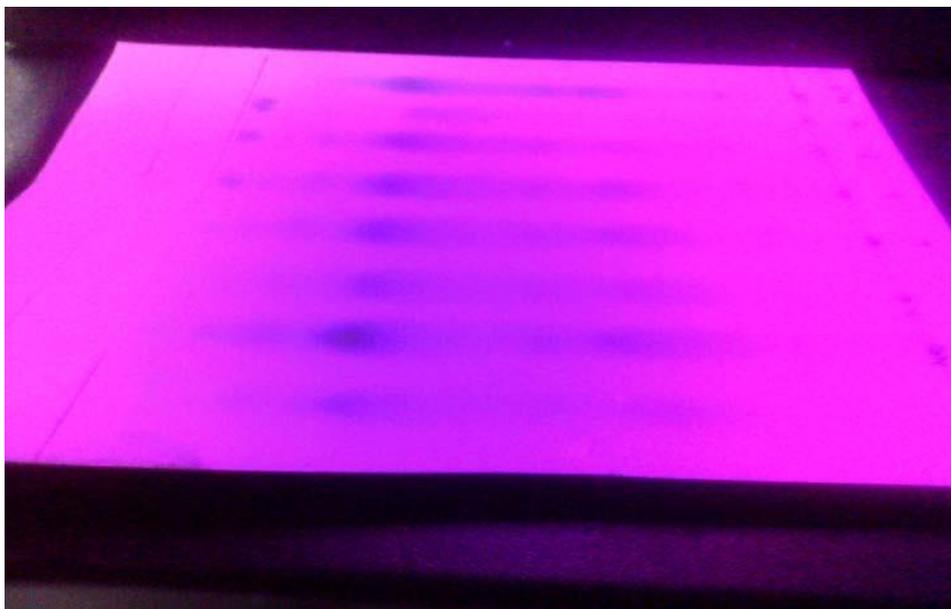
Fuente y elaboración propia.

Leyenda: (+++) Abundante, (++) moderado, (+) bajo, (-) ausente

La determinación de alcaloides se realizó utilizando el reactivo de Dragendorff que es una mezcla de yoduro de potasio y bismuto; los alcaloides forman sales dobles con estos compuestos evidenciando su presencia en forma de precipitados.

Los extractos etanolico 96% y acuoso resultaron negativo (-), a la presencia de alcaloides; en los extractos al 20, 30, 40, 50, 60 70 y 80%, manifestaron bajo contenido (+).

**Figura 2. Identificación de Compuestos Fenolicos en extractos de *Desmodium molliculum* “manayupa” en cromatografía de capa fina.**



Fuente. Elaboración propia.

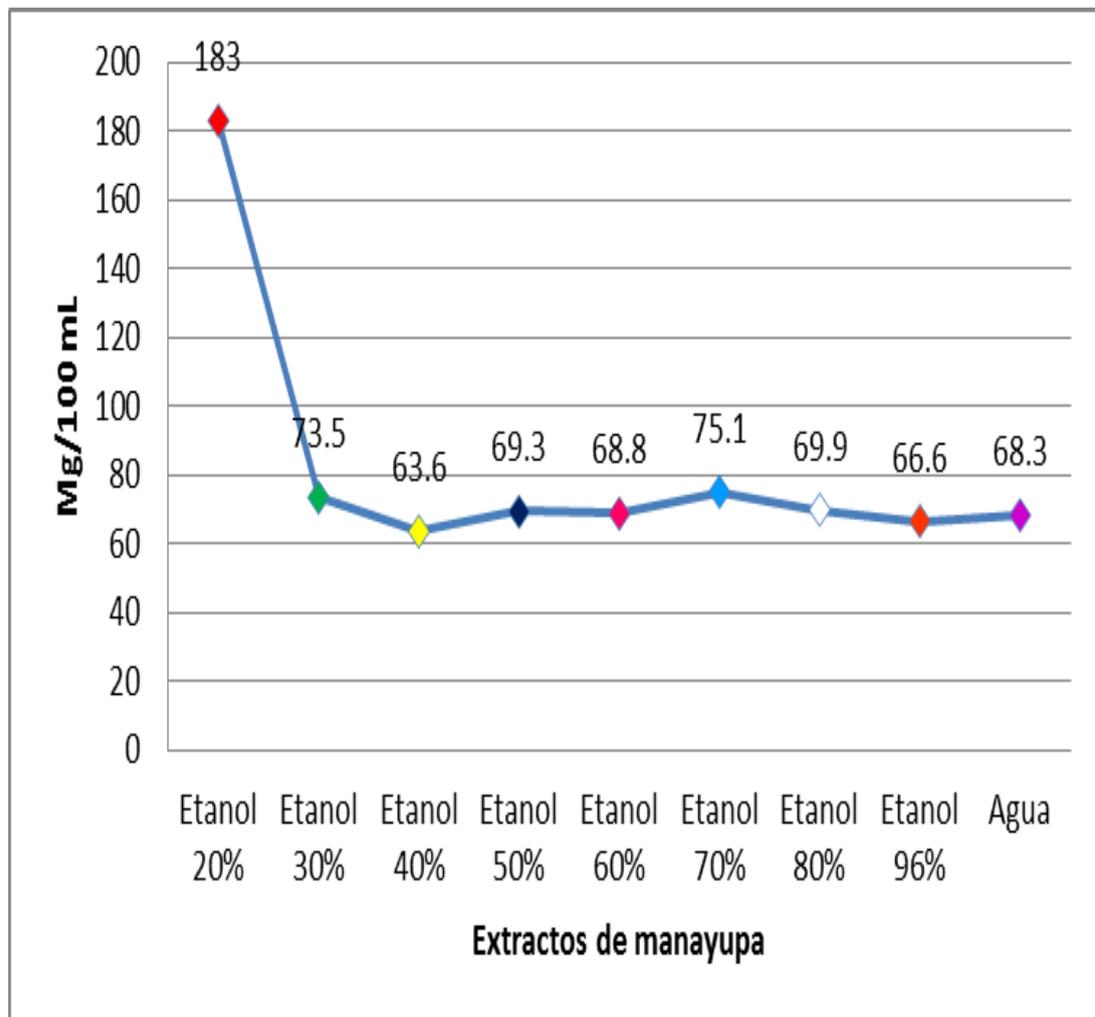
Desde el punto de vista cromatográfico no se observaron diferencias en cuanto a número de manchas y  $R_f$  observados en los extractos provenientes de los diferentes extractos evaluados, y aunque en casos algunas manchas aparecen menos intensas, no se observaron indicios de una posible degradación, puede considerarse en consecuencia que las diferencias observadas en el tamizaje fitoquímico pudieran estar dadas por posibles interferencias en algunos de los ensayos o por diferencias en cuanto al contenido de compuestos en cada extracto detectado en ambas técnicas de identificación.

**Cuadro N° 07. Contenido de Compuestos Polifenólicos en extractos de *Desmodium molliculum* “manayupa”.**

<b>Extracto</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Mg /100 mL</b>
Etanol 20%	1,182	183,0
Etanol 30%	1,860	73,5
Etanol 40%	1,739	63,6
Etanol 50%	1,809	69,3
Etanol 60%	1,802	68,8
Etanol 70%	1,880	75,1
Etanol 80%	1,816	69,9
Etanol 96%	1,776	66,6
Agua	1,797	68,3

Fuente y elaboración propia.

**Grafico 2. Comparación del Contenido de compuestos fenólicos de extractos de *Desmodium molliculum* “manayupa”.**



Fuente y elaboración propia.

## 4.2 Discusión de resultados

Teniendo en cuenta la información popular referida para la especie *Desmodium molluculum* “manayupa”, se decidió el estudio de las hojas por ser la parte más empleadas en la medicina tradicional, en enfermedades asociadas a procesos inflamatorios, depurativos sanguíneos y enfermedades de la mujer.

Las características organolépticas corresponden a un estado de conservación adecuado tratándose de la droga seca, determinándose el porcentaje de humedad de la muestra.

La determinación de humedad demostró que los resultados 7,2% (cuadro 1), cumplen con el límite establecido en las farmacopeas internacionales para el porcentaje de humedad; Cabieses (2000), afirma que un exceso del agua en una planta medicinal inducirá el crecimiento microbiano, la presencia de hongos o de insectos, y se producirá la hidrólisis, por lo cual es necesario que después de la desecación de la droga la humedad sea inferior o igual al 10%, además a este porcentaje de humedad la droga se conserva por tiempo prolongado, sin deteriorar la calidad del material. Lo que demuestra que las condiciones de almacenamiento son las adecuadas lo cual conlleva a la ausencia de microorganismos patógenos y la mínima degradación de sus metabolitos.

En el cuadro 2 se anotaron los volúmenes correspondiente a de cada uno de los extractos ensayados. Los volúmenes finales fueron concentrados a extractos secos; los resultados observados en los gráficos 1 y 2, nos permiten deducir que no existen diferencias significativas entre los pesos y porcentajes de los sólidos totales obtenidos.

La determinación cualitativa de metabolitos secundarios presentes en los extractos muestreados se realizó mediante reacciones específicas para cada grupo químico. La reacción se considera positiva por la aparición de coloración o precipitación cuya intensidad es valorada por cruces. Las reacciones practicadas para la presente investigación resultaron positiva a flavonoides, taninos, alcaloides, terpenos y/o esteroides y compuestos fenólicos para todos los extractos ensayados, tal como se observa en los cuadros 3, 4, 5 y 6, lo que permite concluir que la bibliografía revisada coincide con los resultados obtenidos en la investigación experimental.

La cromatografía en capa fina (fig. 2), realizada, mostró resultados coincidentes con los obtenidos en el tamizaje fitoquímico, evidenciando la presencia de compuestos polifenólicos en la reacción frente a tricloruro férrico al 2%, utilizado como revelador. A la luz ultravioleta se apreciaron manchas fluorescentes amarillo intenso, presumiblemente flavonoides si tomamos en consideración las referencias dadas por Mabry (1970), notándose más intensas en los extractos etanólicos al 60, 70, 80 y 96%.

En el cuadro 7 se observa que la concentración de compuestos polifenólicos de los extractos ensayados se encuentra en el rango de 63,6 a 183,0 mg/100 mL, destacando el extracto etanólico al 20%, con el más alto contenido, mientras que el extracto etanólico al 40% obtuvo el valor más bajo.

## CONCLUSIONES

1. Los taninos y flavonoides, presentes en hojas de *Desmodium molliculum* “manayupa”, son compuestos polifenólicos solubles en etanol, agua y mezclas hidroalcohólicas.
2. El contenido de compuestos polifenólicos de las hojas de manayupa, se encuentra en el rangos de 63,6 a 183,0 mg/100 mL, destacando el extracto etanólico al 20%, con el contenido más elevado.
3. En todos los extractos ensayados se determinó la presencia de compuestos fenólicos del tipo taninos y flavonoides; observándose diferencias en el contenido de este grupo químico.

## RECOMENDACIONES

1. No existe investigación que permita comparar los resultados obtenidos en la presente investigación, por lo que se recomienda a futuros estudiantes, la complementación del presente trabajo y divulgar los resultados obtenidos.
2. Implementar la biblioteca especializada que facilite los trabajos de investigación de docentes y estudiantes de nuestra Universidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tello, R. & García, A. Inversión y Generación de Empleo Mediante la Comercialización Sostenida de Plantas Medicinales Amazónicas en el Centro Herbolario Pasaje Paquito, Iquitos. Tesis. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 2003.
2. Pabón C, Hernández-Rodríguez P. Importancia química de *Jatropha curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales. Rev Cubana Plant Med. 2012 Jun; 17(2): 194-209.
3. Mejía K; Rengifo E. Plantas Medicinales de uso popular en la Amazonia Peruana. Segunda edición. Setiembre 2000. Editorial Tarea Asociación Gráfica Educativa. Lima-Perú.
4. Arranz S. "Compuestos Polifenólicos (Extraíbles y No Extraíbles) En Alimentos de la Dieta Española: Metodología para su determinación e identificación". Trabajo de investigación para optar al Grado de Doctor. Universidad Complutense de Madrid. 2010. Madrid-España.
5. Robins, R. J. Química de los alimentos. Rev. Agraria. 2003: 51, 2866.
6. Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., & Ryan, D. Preparación de muestras para la determinación de compuestos fenólicos en las frutas. Rev. Analista 2000: 125(5), 989-1009.
7. Price, R. K., Welch, R. W., Lee-Manion, A. M., Bradbury, I., & Strain, J. Compuestos fenólicos totales y potencial antioxidante en plasma y orina de los seres humanos después del consumo de salvado de trigo. Quimica de los Cereales. 2008: 85(2), 152-157.
8. Krockenberger, K. Los métodos de la extracción de taninos condensados y otros compuestos fenólicos de las plantas: Perspectivas de las Investigaciones en las hojas de eucalipto. Rev. de la ecología química. 2001: 17(1).
9. Khanna, S, Viswanathan, N., Krishnan, S., Sanwal, G. La extracción de fenoles totales en la presencia de agentes reductores. Fitoquímica. 1998, 7(9), 1513-1517.
10. Millones E.; Acero B.; Ticona D.; Torres L. Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* en el modelo murino

de asma. Rev. (en línea) 2012, citado 05 octubre 2014. Disponible en la web site:

[http://www.imbiomed.com/1/1/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=97200&id\\_seccion=2047&id\\_ejemplar=9495&id\\_revista=126](http://www.imbiomed.com/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=97200&id_seccion=2047&id_ejemplar=9495&id_revista=126)

11. Ruiz L, Maco M, Cobos M, Gutierrez-Choquevilca AL, Roumy V. Las plantas utilizadas por los grupos amazónicos nativos del río Nanay (Perú) para el tratamiento de malaria. Rev. de Etnofarmacología 2011; 133:917-921.
12. Castañeda C, Ramos LI, Ibáñez V. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Rev Horizonte Médico. 2008 Jul; 8 (1): 56-72.
13. González J, Lechuga A, Serrano C. Estudio fitoquímico comparativo de *Oenothera rosea* y *Oenothera multicaulis* (*Yawar chonqa*). SITUA. 2001 Sep-Feb; 9 (17): 67–72.
14. Álvarez M; Quispe G; Arnao A y Suarez S. Estudio preliminar de la actividad antioxidante de especies vegetales de uso tradicional del Valle del Mantaro. VI Jornadas Científicas Sanfernandinas y IX Jornadas de Investigación en Salud. An Fac Med Lima. 2007; 68 Suppl 1
15. Lozano N.; Bonilla P. Arroyo J.; Cordova A. Evaluación Fitoquímica y Actividad biológica de *Desmodium molliculum* (H.B.K) D.C (Manayupa) Rev. Ciencia e Investigación. Vol. 4, N° 2 (2001).
16. Acaro F. Efecto anticonceptivo y postcoital del extracto etanólico de las hojas del *Desmodium molliculum* (HBK).DC “Manayupa” en ratas hembras Holtzmann. Revista ECI. Perú Volumen 9 número 2 Marzo 2013
17. Oscanoa J. Estudio Fármaco–Botánico de *Desmodium molliculum* (manayupa). 2005. En línea. Consultado 04 octubre 2014. Disponible en la web site: <http://www.botanical-online.com/col/manapuya.htm>
18. Esteves R, Flores D, y col. Estudios preliminares del efecto del extracto alcohólico de *Desmodium adscendens* (amor seco) sobre la

- fecundidad en ratas hembras. Anales de la Facultad de Medicina. 2002. Vol. 63 Suplemento 1.
19. Konan M.; et al. Cuantificación de fenoles totales y flavonoides de *Desmodium adscendens* (Sw.) DC. (Papillionaceae) y proyección de su capacidad antioxidante. Rev. Biociencias Aplicadas 2012; 49: 3355– 3362 Costa de Marfil.
  20. Mass, B.L y Marulanda, S.I (2000). Biochemical fingerprintin of germplasm accessions and characterization of the tropical forage legume *Stylosanthes capitata* Vogel.
  21. Rodrigues Pereyra Olivia “Estudio estructural y determinación de propiedades antioxidativas de extractos etanólicos de *Thymus citriodorus* y *Cytisus multifloru*
  22. Scientific Research Manayupa. en línea. 2003. Fecha de acceso 28 de setiembre de 2014 URL disponible en: [http://www.chemdel.com/List\\_of\\_Products.html](http://www.chemdel.com/List_of_Products.html).
  23. Lock O. Métodos de estudio de productos naturales. Segunda edición Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994. Lima-Perú.
  24. Chen Y. et al. Preparación de muestras. Rev. Cromatografía A 2008; 1184(1-2): 191-219.
  25. Compuestos Quimicos Toxicos. en línea 2033. fecha de acceso 28 de setiembre de 2014 URL disponible en:  
  
<http://www.zonai.com/consalud/noticiamainm.asp?ZONAI:581138&POS=m&title=consusalud:medicinaComplementaria&catid=159>
  26. NRSP. Norma Ramal. Medicamentos de origen vegetal: Droga Cruda. Métodos de ensayo. La Habana. Cuba: Ministerio de Salud Pública (MINSAP); 1992.
  27. British Pharmacopoeia. London: Her Majesty's Stationery Office, 2004.

28. Cabieses F. Apuntes de Medicina Tradicional: La racionalización de lo irracional. [en línea] Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC).Lima –Perú. 2000. p.7 – 8.
29. Mabry J, Markhan k, Thomas M. La identificación sistemática de los flavonoides. Springer. New York : Harborne JB; 1970.
30. Polit D., Hungler B. Investigación científica en ciencias de la salud. 6ta. Ed. McGraw-Hill Interamericana; 2000.
31. Martínez R., Rodríguez E. Manual de Metodología de la Investigación Científica. En línea . Acceso 21 de setiembre del 2014. Disponible en:  
[http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/cielam/manual\\_de\\_metodologia\\_d\\_e\\_investigaciones.\\_1.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/cielam/manual_de_metodologia_d_e_investigaciones._1.pdf)

## ANEXOS

### Anexo 1. Matriz de consistencia.

**Título: Extracción de compuestos fenólicos de *Desmodium molliculum* Manayupa”**

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	DISEÑO
¿El contenido de compuestos polifenólicos de hojas de <i>Desmodium molliculum</i> Manayupa, varía de acuerdo al solvente empleado?	<b>O. Principal</b>  Extraer los compuestos polifenólicos de <i>Desmodium molliculum</i> “Manayupa”, a partir de las hojas.	<b>H. General</b>  El Contenido de compuestos polifenólicos de los extractos de hojas de manayupa, varía de acuerdo a las características del solvente utilizado.	<b>V. Independiente</b>  Extracto de hojas de manayupa.  <b>V. Dependiente</b>  Solvente: etanol, agua y mezclas hidroalcoholicas	<b>Tipo de investigación:</b>  Experimental.  <b>Método de investigación:</b>  Inductivo,  Cuantitativo,  Transversal.
	<b>O. Específicos</b>	<b>H. Específicos</b>	<b>Población</b>	
	Obtener los compuestos polifenólicos presentes en hojas de <i>Desmodium molliculum</i> “manayupa”, utilizando etanol, agua y mezclas hidroalcoholicas como solventes.  Cuantificar los compuestos polifenólicos de las hojas de <i>Desmodium molliculum</i> “Manayupa”, en los extractos obtenidos.  Establecer diferencias o semejanzas cuali-cuantitativas entre los diferentes extractos de hoja de manayupa obtenidos con los solventes ensayados.	Los extractos alcohólicos proveen mejores rendimientos de polifenoles totales, que los extractos acuosos e hidroalcoholicos.  Existen diferencias cuali-cuantitativas en el contenido de compuestos polifenólicos entre extractos obtenidos.	Conformada por hojas de <i>Desmodium molliculum</i> “manayupa”  <b>Muestra</b>  Manayupa 500 g.	

**Anexo 2. Instrumentos de recolección de datos.**

**1. Determinación de metabolito presente en el extracto de manayupa.**

**Metabolito identificado:**.....

**Reactivo utilizado:**.....

<b>Extracto</b>	<b>Indicador</b>	<b>Resultado</b>
Etanol 20%		
Etanol 30%		
Etanol 40%		
Etanol 50%		
Etanol 60%		
Etanol 70%		
Etanol 80%		
Etanol 96%		
Agua		

**Interpretación de resultados:**

Coloración muy acentuada marcar:      +++ Abundante.

Coloración media marcar:                ++ moderado

Coloración tenue marcar:                + bajo

No presenta coloración marcar:        - ausente

## 2. Lectura de las absorbancias de los extractos

<b>Extracto</b>	<b>Absorbancia</b>
Etanol 20%	
Etanol 30%	
Etanol 40%	
Etanol 50%	
Etanol 60%	
Etanol 70%	
Etanol 80%	
Etanol 96%	
Agua	

**Fuente y elaboración propia.**

**Figura 3. Planta medicinal *Desmodium molliculum* "Manayupa"**



**Fuente y elaboración propia.**

**Figura 4. Deseccación del material vegetal "manayupa"**



**Fuente y elaboración propia**

Figura 5. Hojas desecadas de manayupa



Fuente y elaboración propia

Figura 6. Pesado de hojas secas de manayupa.



Fuente y elaboración propia.

Figura 7. Preparación de los extractos de manayupa



Fuente y elaboración propia.

Figura 8. Extracción de la muestra



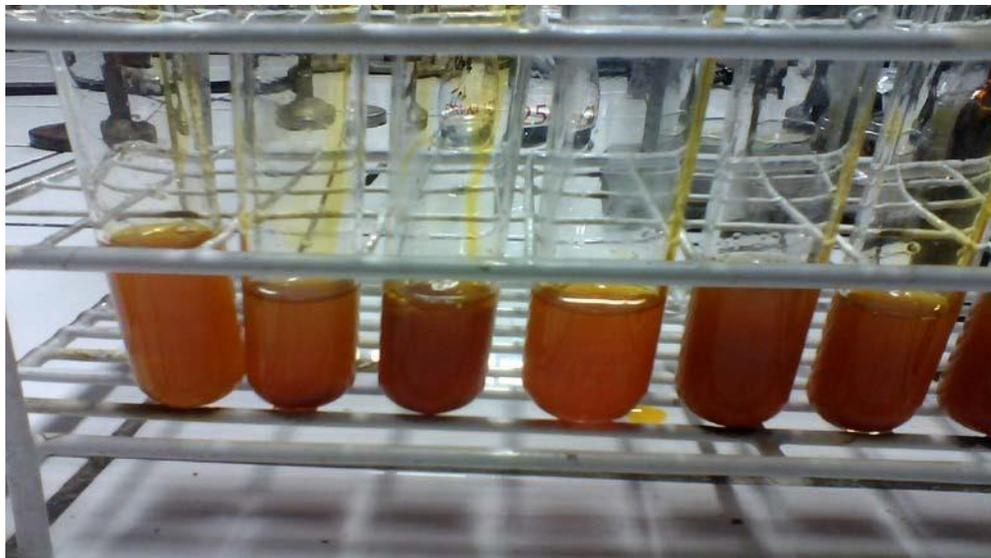
Fuente y elaboración propia.

Figura 9. Extractos de manayupa.



**Fuente y elaboración propia**

Figura 10. Identificación de flavonoides en extractos de manayupa.



Fuente y elaboración propia.

Figura 11. Cromatografía en capa fina



Fuente y elaboración propia.

Reconocimiento con vapores de amonio se observó con mayor claridad la presencia de flavonoides y taninos.

Para el revelado se empleó el tricloruro Férrico al 2% comprobando así los resultados en las muestras y mayor cantidad de taninos y la presencia de flavonoides.

La cromatografía en capa fina permite la identificación de derivados de la triptamina, flavonoides (vitexina e isovitexina), saponinas (soyasaponinas I y III, dehidrosoyasaponina I), antocianinas, polifenoles, taninos, terpenos, ácidos grasos insaturados y trazas de alcaloides.