Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0

UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Actividad antioxidante del extracto etanolico de la especie *Argemone mexicana* "cardo santo"

Presentado por:

MANCILLA CONDOR, YUL CRISOLVO

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA.** El resultado obtenido es **14%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 27 de Junio de 2023

Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

POJB/osad

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Actividad antioxidante del extracto etanolico de la especie *Argemone mexicana* “cardo santo”

Línea de Investigacion

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

AUTOR

BACH. YUL CRISOLVO MANCILLA CONDOR

Ica - Perú

2023

DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada a mis maestros de la Facultad de Farmacia y Bioquímica por los conocimientos brindados durante los años de estudio y dedicación, por cada una de sus exigencias para ser un buen profesional, a mi familia mis padres y hermanos que gracias a ellos supe salir adelante superando cada obstáculo y salir victorioso en cada meta propuesta.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a DIOS por cada meta lograda, por mantenerme en pie ante cualquier adversidad, a mi papá Juan Mancilla, mi mamá Josefina Condor, mis hermanos Juan Luis, Denilson y Piero que me brindaron su apoyo, y por supuesto a mi asesor de Tesis al Doctor Felipe Surco, por su gran aporte durante el desarrollo de mi tesis.

Agradecer a la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica en especial a los docentes de nuestra querida Facultad de farmacia y Bioquímica.

ÍNDICE

	Pagina
Dedicatoria	Ii
Agradecimientos	Iii
Resumen	X
Abstract	Xi
Introducción	Xii
II. PLAN DE INVESTIGACION	
2.1.1. Antecedentes de investigacion	13
2.1.2. Bases Teóricas	18
2.1.2.1 Cardo Santo	18
2.1.2.2 Familia Papaveraceae	18
2.1.2.3. Radicales libres	20
2.1.2.4 Metabolito Secundario	21
2.1.2.5 Antioxidante	22
2.1.2.6 Radicales libres	23
2.1.2.7 Metabolito secundario	23
2.1.2.8 Los terpenos	24
2.1.2.9 Triterpenos	25
2.1.2.10 Flavonoides	27
2.1.2.11 Alcaloides	31
2.1.2.12 Estrés Oxidativo.	32
2.1.2.13 Ácidos Fenólicos	33

2.1.3 Descripción de la Situación Problemática 34

2.1.4 Formulación del Problema 34

2.1.5 Justificación e Importancia de la Investigación 35

2.1.6 Importancia 35

2.2 Objetivos de la investigación 36

2.3 Hipótesis y Variables de la Investigación 36

2.3.1 Hipótesis 36

2.3.1.1 Hipótesis General 36

2.3.1.2 Hipótesis Específica 36

2.3.2 Variables 36

2.3.2.1 Variable independiente 36

2.3.2.2 Variable dependiente 36

2.4 Estrategia Metodológica 37

2.4.1 Tipo y diseño de la Investigación 37

2.4.1.1 Diseño de investigación 37

2.4.2 Técnicas e Instrumentos de recolección de la información 39

2.4.2.1 Recolección del material vegetal 39

2.4.2.2 Tratamiento de la muestra 39

2.4.2.3 Tamizaje Fito químico 40

2.4.2.4 Determinación de grupos funcionales 44

2.4.2.4.1 Obtención de Fracciones 44

2.4.2.4.2 Detección de Taninos 45

2.4.2.4.3 Detección de Flavonoides 45

2.4.2.4.4 Detección de Aminoácidos 45

2.4.2.4.5 Detección de Alcaloides 46

2.4.2.4.6 Detección de Saponinas 46

2.5 Procedimiento de Caracterización Físico químicas 46

2.5.1 Sólidos totales 46

2.5.2 Sólidos solubles: AOAC 932.12 46

2.5.3 Cenizas: AOAC 923.03 Ash 46

2.5.4 pH: AOAC 981.12 pH 46

2.6 Métodos Para Determinar la Actividad Antioxidante 50

2.6.1 Determinación de actividad antioxidante por método DPPH 50

2.6.2 Determinación de actividad antioxidante por método FRAP 50

2.6.3 Determinación de actividad antioxidante por método ABTS 50

2.7 Análisis e Interpretación de los Resultados 52

2.8 Aspectos Éticos 52

III. Resultados 53

IV. Discusión de Resultados 60

V. Conclusiones 62

VI. Recomendaciones 63

VII. Bibliografia 64

VIII. Anexos 70

Índice de Tablas

Tabla N°1 Operacionalización de variables. 37

Tabla N°2 caracterización fisicoquímica del extracto etanolico de la especie Argemone mexicana “cardo santo” 53

Tabla N° 3 Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanolico de la especie Argemone mexicana “cardo santo”. 53

TablaN°4 valores de las concentraciones de soluciones del extracto para la determinación de inhibición de radical DPPH. 54

Tabla N°5 valores de las concentraciones estándares de trolox para la determinación de Actividad antioxidante por método FRAP. 55

Tabla N°6 Lecturas de las soluciones de extracto de la especie para la determinación de TEAC por el método FRAP. 56

Tabla N°7 Valores de las concentraciones estándares de trolox para la determinación de Actividad antioxidante por ABTS. 57

Tabla N°8 Lectura de las soluciones de extracto de la especie para la determinación de TEAC por el método ABTS. 58

Índice de Figuras

Figura 1: Contenido de Alcaloides de semillas inmaduras y semillas maduras. 14
Figura 2: Especie *Argemone mexicana* en estado de floración. 19
Figura 3: Fruto con una forma ovalada con espinas que en su interior contiene semillas de un color negro. 19
Figura 4: Acción del antioxidante sobre el radical libre mediante la donación de electrón. 21
Figura 5: Un claro ejemplo de un antioxidante es la Vitamina C 22
Figura 6: Estructura química de un terpeno derivado del isopreno, en su Estructura presenta dos dobles enlaces. 24
Figura 7: Estructura del Isopreno *(2-metil-1,3-butadieno*). 25
Figura 8: Estructura Química de un Triterpeno. 26
Figura 9: Estructura Química de un flavonoides tipo flavona y flavonol. 28
Figura 10: Compuestos con Actividad antioxidante. 28
Figura 11: Tipos de flavonoides, subclases y fuentes naturales. 29
Figura 12: Estructura química de la Quercetina. 30
Figura 13: Estructura química de los alcaloides. 31
Figura 14: Generación exógena de radicales libres y sus enfermedades. 33
Figura 15: Compuestos Fenólicos con Actividad Antioxidante. 34
Figura 16: Muestra vegetal de las partes aéreas de la especie vegetal Argemone mexicana colocadas en un envase de vidrio. 41
Figura 17: Muestra vegetal más etanol de 96° listo para su maceración por un periodo de 15 días envuelta en papel aluminio. 41
Figura 18: Reposision del metanol evaporado y cambio del papel aluminio que envuelve al envase. 42
Figura 19: Filtrado de la especie *Argemone mexicana* cardo santo 43
Figura 20: Filtrado de la especie *Argemone mexicana* cardo santo 43
Figura 21: Eliminacion del disolvente a presion reducida en un evaporador rotatorio marca Buchi. 43
Figura 22: Eliminacion del disolvente a presion reducida en un evaporador rotatorio marca Buchi. 43
Figura 23: Obtención del extracto seco. 44
Figura 24: Obtención del extracto seco. 44

Figura 25: Facciones obtenidas por el screening fitoquimico. 47
Figura 26: Determinación de cenizas del extracto etanolico de la especie Argemone mexicana “cardo santo”. 48
Figura 27: Determinación de Humedad del extracto etanolico de la especie Argemone mexicana “cardo santo” 48
Figura 28: Determinación de PH del Extracto Etanolico de la Especie *Argemone mexicana* “Cardo Santo” 49
Figura 29: Determinacion de solidos soluble de la especie *Argemone Mexicana* “cardo santo”. 49
Figura 30: Determinación de actividad antioxidante por método DPPH. 51
Figura 31**:** Determinación de actividad antioxidante por método FRAP 51
Figura 32: Determinación de actividad antioxidante por método ABTS. 52
Figura 33: Curva de correlación entre concentración del extracto y porcentajes de inhibición del radical DPPH 55
Figura 34: curva de calibración de trolox según método FRAP. 56
Figura 35: Curva de correlación entre concentración de extracto y equivalentes de trolox. 57
Figura 36: Curva de calibración de trolox según el método del radical ABTS. 58
Figura 37: curva de correlación de concentración del extracto VS equivalente de trolox Expresado en milimoles. 59

RESUMEN

Objetivo.- El presente estudio de investigación tuvo como objetivo principal evaluar la Actividad Antioxidante del extracto etanolico de la especie *Argemone mexicana* "cardo santo" recolectada en la Provincia de Churcampa, Departamento de Huancavelica, especie a la que se le atribuye propiedades beneficiosas para la salud de los seres humanos .

Métodos.- Se preparó un extracto etanolico por maceración por un periodo de 15 días con alcohol de 96 grados, el cual luego se llevó a sequedad para posteriormente realizar la determinación de los metabolitos secundarios mediante la realización de un screening fitoquímico según los métodos propuestos por Olga Lock, así mismo para la evaluación de la actividad antioxidante se usaron los métodos DPPH en el cual se determinó el porcentaje de inhibición para hallar el correspondiente IC50; y los métodos de ABTS y FRAP en los cuales se utilizó el trolox como patrón de referencia

Resultados. - El extracto crudo de la planta entera presenta metabolitos secundarios como: grupos fenólicos libres, flavonoides y triterpenos; con respecto al estudio y análisis para determinar la actividad antioxidante por el método DPPH presenta un IC_{50} de 3,28 mg, para el método FRAP presenta equivalente de trolox de 0,345 mM así para el método ABTS presenta un resultado equivalente de 0,262 mM

CONCLUSIÓN.- La especie *Argemone Mexican*a "cardo santo" presenta metabolitos secundarios que se pueden relacionar con su actividad antioxidante que se encuentran en la planta entera.

Palabras **Claves**.- Antioxidante, método DPPH, ABTS Y FRAP

ABSTRACT

Objective. - The main objective of this research study was to evaluate the Antioxidant Activity of the ethanolic extract of the Argemone mexicana species "cardo santo" collected in the Province of Churcampa, Department of Huancavelica, a species to which beneficial properties for the health of human beings.

Methods.- An ethanol extract was prepared by maceration for a period of 15 days with 96-degree alcohol, which was then dried to later determine the secondary metabolites by performing a phytochemical screening according to the methods proposed by Olga Lock, likewise for the evaluation of the antioxidant activity, the DPPH methods were used, in which the percentage of inhibition was determined to find the corresponding IC50; and the ABTS and FRAP methods in which trolox was used as the reference standard

Results.- The crude extract of the whole plant presents secondary metabolites such as: free phenolic groups, flavonoids and triterpenes; Regarding the study and analysis to determine the antioxidant activity by the DPPH method, it presents an IC50 of 3.28 mg, for the FRAP method it presents trolox equivalent of 0.345 mM, thus for the ABTS method it presents an equivalent result of 0.262 mM

CONCLUSION.- The species Argemone Mexicana "cardo santo" presents secondary metabolites that can be related to its antioxidant activity found in the whole plant.

Keywords. - Antioxidant, DPPH method, ABTS AND FRAP

I. INTRODUCCION

El Perú es uno de los países más diversos que existe, así mismo posee un enorme potencial en plantas medicinales que nos motivan a investigar con una única finalidad que es mejorar la calidad de vida de las personas "pacientes", las cuales hasta la fecha solo un porcentaje vienen siendo aprovechadas en su verdadera magnitud.

Argemone mexicana posee una eficacia para aliviar diversos malestares que puedan afectar a la salud de las personas, los autores Torrijo Alejandra, huerta Arturo y Aragón Gustin el 2014 (4). Describieron algunas propiedades farmacológicas atribuidas al cardo santo de esta manera se va acortando el limitado conocimiento que tienen los profesionales de la salud sobre sus efectos beneficiosos de esta especie, motivo por el cual surge el interés para el estudio de una de sus propiedades medicinales. La propiedad antioxidante se debe a la presencia de compuestos bioactivos con capacidad reductora o captadoras de radicales libres como la vitamina C, E, b-caroteno, y una mezcla compleja de compuestos de naturaleza fenólicas (1).

Para el estudio de la actividad antioxidante primero se realizara un análisis fitoquimico del extracto etanolico de *Argemone mexicana* con la finalidad de detectar la presencia de diversos metabolitos secundarios como alcaloides como el grupo de los bencilisoquinolinicos, típicos de las Papaveraceas, e incluyen compuestos del grupo protoberberina (berberina), predominantes en las partes aéreas, flavonoides, taninos, quinonas, fenoles, triterpenos principalmente (2).

Loa métodos empleados para el estudio de la actividad antioxidante como la inhibición de los radicales son concernientes a los estudios del 2010 con un porcentaje de DPPH (85,17%) y ABTS (75,27%) (12). Asi mismo remarca Díaz M. H. (2016) remarca que *Argemone mexicana* a concentraciones de 15, 20,50, 75 y 100 ug/ml se obtiene un porcentaje de inhibición de 91.20%.(14).

II. Plan de Investigacion

2.1.1. Antecedentes de la Investigacion

Argemone mexicana considerada como una de las especies de plantas más importantes en la medicina tradicional. Es utilizada en diferentes tratamientos de varias dolencias, incluyendo tumores, verrugas, enfermedades de la piel, inflamaciones, reumatismo, ictericia, lepra, infecciones microbianas y malaria. Curiosamente, la planta es la fuente de una diversidad de clase de componentes químicos siendo los alcaloides en su mayoría abundantes. (3)

Los autores torrijo Alejandra, Huerta Arturo y Aragón Gustin (2014) describieron que la especie *Argemone mexicana* es una planta que pertenece a la familia papaverácea que es utilizada desde la antigüedad con fines medicinales, esta misma especie presenta variedades de propiedades medicinales como antidiuréticas, antiséptica, analgésicas y anti inflamatorias. El Cardo santo además de sus propiedades medicinales resulta ser una planta con propiedades toxicas; los responsables de esta propiedades son la presencia de alcaloides como la sanguinarina y Dihidrosanguinarina que se encuentran en su gran mayoría en la semillas, deisoquinonas y berberinas presentes en la raíz, la coptisina, alocriptopina y dihidrocelerina presentes en toda la planta.(4)

Felipe V. F; Jorge R.P Y Jorge X. T. Determinaron que la distribución de berberina y sanguinarina se encuentra en las raíces, tallos y hojas de plantas adultas de Argemone mexicana, junto con las reacciones biocinéticas iniciales, que son comunes para ambos alcaloides, así como en las reacciones específicas finales que conducen a la formación de cada uno de ellos. El análisis concluyo que las raíces fueron los sitios en donde vio la mayor acumulación de alcaloides a pesar de que mostraron una menor acumulación de los transcritos analizados. Los resultados se discutieron en función de un posible mecanismo de transporte de alcaloides entre los tejidos aéreos y las raíces o bien, de la ocurrencia de alternativas biosintéticas diferentes en tejidos de ambas partes, aéreos y subterráneos. (5)

Jesús R.S.P Estudio la Especie *Argemone mexicana* también conocida como chicalote es herbáceo y muy espinoso de hojas glaucas irregularmente recortadas y picudas. También presenta en los tallos y hojas un exudado de látex amarillo; flores Amarillas y a veces blancas, estambres numerosos; fruto con cápsula espinosa, con semillas redondas, rugosas de 1-2 mm. Su descripción más importante radica en la presencia de alcaloides

isoquímenos, en toda parte de la planta. La protopina y la berberina se encuentran en mayor cantidad en las ramas, raíz y semillas. (6)

Floyd L; José L; Miriam M; y Felipe V estudiaron que las semillas de *Argemone mexicana* L. acumulan grandes cantidades significativas de sanguinarina (alcaloide principal). El análisis de la distribución de este alcaloide a través de los tejidos de semillas maduras reveló que se encuentra hasta el 60 % de su contenido está fuertemente adherido a los diferentes componentes de las cubiertas externas de las semillas donde persistió durante la germinación de las plántulas. Por el contrario la cantidad de contenido de sanguinarina en el cotiledón representó el 40 % restante y podría haber sido, al menos parcialmente movilizado a los hipocótilos que se encuentren recién formados durante la emergencia de las semillas. Mientras que el alcaloide berberina solo se detectó en las semillas inmaduras y en plántulas una vez que los cotiledones se encuentren desplegados por completo. Este llevaría a la conclusión que el papel fundamental de la sanguinarina se encuentra en la protección química durante la germinación de las plántulas de la especie Argemone mexicana. (7)

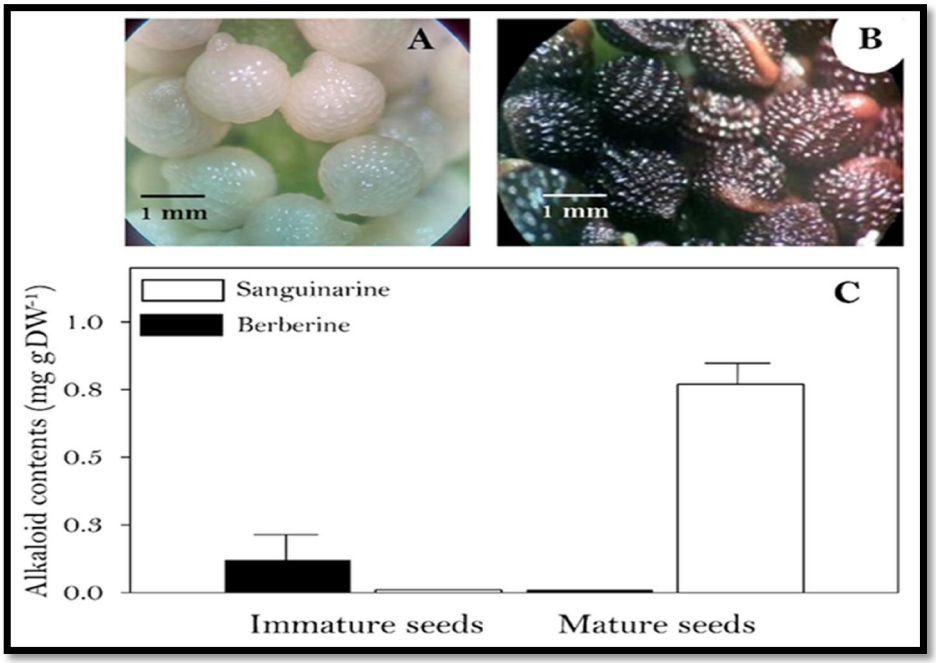


Figura 1

Figura (1). Contenido de alcaloides en semillas inmaduras y semillas maduras. Jose L.H. Distribución de Alcaloides en Semillas de Argemone mexicana L. (Papaveraceae) Méx. Química Soc vol.65 no.4 Ciudad de México28-feb-2022. (7)

Uno de sus alcaloides de la especie Argemone mexicana se postula como el principal constituyente tóxico de la *Argemone mexicana L*. Este alcaloide mostró un incremento en las aminotransferasas y deshidrogenasa láctica, así como vacuolización hepática, acumulación y peroxidación lipídica. Después de la administración de la sanguinarina en ratones, se observó además inducción de muerte celular, fragmentación del ADN e incremento en las especies reactivas de oxígeno y disfunción mitocondrial. Desde el año 1993 se logró observar que puede inducir la inhibición de la Na/K-ATPasa, lo que a su vez puede inhibir el transporte activo de D-glucosa dependiente de la bomba de sodio. Para el año 1997 se logró investigar y reconocer que el aceite de Argemone ocasiona alteración en la biotransformación, tanto en la fase I como en la II, al interactuar con las proteínas del sistema P-45017. Las flores de Argemone mexicana contienen flavonoides y las semillas el argemexitín, eriodictiol y luteolín; un aceite fijo en el que se encuentran los ácidos grasos argemónico, mexicánico y mexicanol. La raíz de cardo santo contiene beta-sitosterol. Hasta el momento, los mecanismos propuestos de toxicidad de la *Argemone mexicana L* incluyen lesión de la membrana celular por las especies reactivas de oxígeno y la peroxidación lipídica, inhibición de la ADN-polimerasa y la acumulación de piruvato debido a un aumento en la glucogenolisis (8).

Fabián M.H (2013), Estudio que el mosquito Aedes Aegypti es el principal transmisor del Dengue, esta enfermedad se ve incrementada por la resistencia que presenta el transmisor a los insecticidas utilizados, por ello se hace él estudio para la búsqueda de nuevas moléculas para combatir a dicho vector, los extractos obtenidos de la semilla de especie *Argemone mexicana* se llevan a maceración y las fracciones obtenidas se llevan para la evaluación sobre larvas de Aedes Aegypti, posteriormente se determinaron las dosis letales medias para ser toxicas para el vector biológico, para la selección de los mejores extractos se realizaron pruebas fotoquímicas y cromatografía de gases- espectrometría de masas para la identificación de compuestos presentes.(9)

Motilal, Biragi S. estudiaron el extracto acuoso de *Argemone mexicana*, para ello se preparó utilizando el método de percolación y se sometió a un análisis fitoquímico. Para la evaluación de la actividad diurética y laxante se utilizaron unas jaulas metabólicas y un fotómetro de llama según el método estándar descrito con anterioridad. Para el posterior estudio se administró furosemida en una proporción (20 mg / kg) y picosulato de sodio (5 mg / kg), como control positivo de la actividad diurética y actividad laxante respectivamente. El extracto de Argemone Mexicana logro una Efectividad a una dosis de 250 mg/k. (10)

La actividad anti-Plasmodium de la parte aérea de A. *mexicana* se evidenció anteriormente en estudios con modelos animales a partir de la evaluación de extractos crudos, en ensayos clínicos al evaluar la decocción de hojas y tallos utilizada por la población en Mali. La actividad antiplasmodial del extracto crudo de la parte aérea de *A. mexicana* presente en Cuba refuerza la utilidad de esta especie como antimalárica. En Mali, la decocción de *A. mexicana* para uso antimalárico contiene alcaloides de protoberberina (berberina, protopina y alocriptopina) con potente actividad antiplasmodial, por lo que se consideran sus principios activos. El extracto enriquecido en alcaloides de esta especie en Cuba exhibió una actividad antiplasmodial in vitro más potente que el crudo, a la vez que la fracción sin alcaloides resultó inactiva. De esta forma se confirma la alta implicación de los alcaloides en la actividad antimalárica de A. mexicana. (11)

Perú (2010) informó que el extracto etanolico de raíces de *A. mexicana* posee ¿actividad antioxidante? A una dosis de concentración de 100 µg / mL, así mismo el extracto mostró una alta actividad depuradora contra DPPH (85,17%), ABTS (75,27%) y H_2O_2 (84,25%) radicales. el extracto de hojas de A. mexicana También exhibe eliminación de aniones superóxido por ensayo de nitro azul tetrazolio con máximo porcentaje de captación de radicales libres en una dosis de 200 µg / mL; el extracto de acetona es el que muestra más activo Valor de CI50 el doble que el del ácido L-ascórbico (Bhardwaj et al., 2011). (12)

Héctor C. T. Y Ronald C. M. (2017), Evaluaran la actividad antioxidante in vitro, mediante la una neutralización del radical del DPPH, obteniéndose un IC50 de 62,λ5 ʒg/mL para el extracto. Asimismo en la actividad antioxidante in vivo, la actividad de las enzimas SOD y GPx disminuyeron significativamente para las concentraciones de 100 y 200 mg/kg en comparación con el grupo control que se manejó; en el caso de la enzima CAT también disminuyó aunque no significativamente. La concentración de TBARS en los grupos que recibieron el extracto disminuyó significativamente en relación al grupo control. (13)

Diaz M. H. (2016) determino *in vitro* la actividad antioxidante, empleado el método de la neutralización del radical del DPPH, a las concentraciones de 15, 20, 50, 75 y 100 µg/mL, se obteniendo a la concentración de 100 µg/mL un porcentaje de inhibición de 91.20. En el estudio fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de látex de *A. mexicana* se detectó la presencia de flavonoides, alcaloides, fenoles, taninos y quinonas principalmente. En el ensayo de toxicidad oral en ratones hembras Balb/c con las dosis de 0.0025; 0.025; 0.25; 2.5 y 20 g/kg, se obtuvo un DL50 es mayor a 2000 mg/kg lo que

determina la seguridad del extracto; en conejos Nueva Zelanda se realizó el ensayo de irritación ocular siguiendo los métodos descritos en la norma OECD 405. (14)

Cieza Heredia M., y Castillo Laborio E. (2019). Determinaron la actividad antioxidante de *argemone subfusiformis* "cardo santo" por los métodos de ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6 Sulfónico (ABTS●+) y 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH); Así como, la actividad citotóxica mediante el bioensayo en Artemia salina (CYTED). Los diferentes extractos hidroalcohólicos de raíz, tallo y hojas a la prueba de DPPH se obtuvo una concentración inhibitoria media (IC_{50}) de 1017.83±3.11, 330.48±1.09 y 497.52±1.21 µg/mL respectivamente; para la prueba de radical $ABTS^{\bullet+}$ se obtuvo un IC50 de 341.60±0.95 136.70±0.24 y181.27±0.84 µg/mL respectivamente. Con respecto a la concentración letal media (CL_{50}) de los extractos hidroalcohólicos de raíz, tallo y hojas estos fueron de 578.515, µg/mL, 562.790 y 552.868 µg/mL respectivamente. (15)

Jose Ignacio Laines Hidalgo (2019) los alcaloides pertenecientes a *A. mexicana* son del grupo bencilisoquinolinicos (ABLS) derivados de la tirosina y de las papaveraceas, la mayor cantidad de alcaloide que se encuentra en la planta A. mexicana es la berberina y la benzofenatridina ambas distribuidas en los tejidos, semillas maduras y la raíz. Los bencilisoquinolinicos (ABLS) son muy importantes por que poseen múltiples propiedades farmacológicas potentes. El estudio comenzó con la purificación de la morfina, se utilizaba como narcótico y como analgésico. (16)

Los autores Conover E et. (2012) Mencionan que *Argemone mexicana* y *Argemone ochroleuca* presentan propiedades antibacterianas y antiinflamatorias, junto a sus reacciones de hipersensibilidad y efecto laxante. Existen estudios que la planta tiene un efecto galactagoga junto con un desconocimiento de su trasferencia a través de la leche materna. Así mismo se menciona su utilidad para ayudar al flujo sanguíneo de la glándula mamaria, ayudando secundariamente a la producción de leche. Sin embargo describen que a dosis superiores de 5 gramos provocan efectos adversos gastrointestinales y eventos hemorrágicos al poseer factores activadores de plaquetas. (17)

2.1.2 Bases Teóricas

2.1.2.1 Cardo santo

Es una Hierba anual robusta de origen mesoamericano del centro y sur de América, que pertenece a la familia de la Papaveraceae con una altura promedio de 80 cm a 1 m; de tallo glabro, glauco, espinoso color verde-azulado; hojas miden hasta 20 cm de longitud, pinati-partidas con las divisiones dentado espinosas, verde-azuladas, sésiles, glaucas con líneas azul brillante sobre las venas principales, abrazadoras, flores grandes rodeadas de algunas hojas reducidas y sésiles, solitarias de 4 a 7 cm de diámetro, de pétalos de color amarillo brillante o algunas veces amarillo pálido; fruto es una capsula oblonga ampliamente elíptica de 24 a 45 mm de largo por 12 a 20 mm de ancho, no incluyendo las espinas. (18)

2.1.2.2 Familia Papaveraceae. – Las plantas que pertenecen a esta familia presentan característica Herbácea, arbustiva que contiene un látex acuoso lechoso o amarillento con un olor fuerte, presenta hojas alternas con flores opuestas dentadas y lobuladas, raramente periginas, perfectas, actinomorfas. Receptáculo formado por un andróforo, esta familia está bien distribuida en regiones templadas, sus flores son solitarias o agrupadas en cimas o racimos, normalmente posee 4 pétalos libres, una de las especies más conocidas es la Adormidera que produce el Opio siendo de muy importancia económica. El fruto de la especie argemone mexicana es una cápsula globosa, de forma, más bien ovalada con espinas. Dentro se encuentran gran cantidad de semillas redondas color negro. La reproducción se logra por medio de semillas, las cuales germinan fácilmente mediante la polinización.

Figura (2). Argemone mexicana en estado de floración

Figura (3). Fruto de Argemone mexicana. Presenta forma ovalada con espinas.

2.1.2.3 Radicales libres

Tipo de moléculas inestables que ocurren normalmente durante el metabolismo basal de las células (cambios químicos naturales en una célula). Estas moléculas suelen acumularse en las células y dañar otras moléculas, como los lípidos, las proteínas y el ADN. Este daño suele incrementar el riesgo de cáncer y otras enfermedades. (19).

Se ha estimado que estos radicales son responsables de alrededor del 60-70 % del daño que sufren los tejidos cuando son expuestos a radiaciones ionizantes, Es importante mencionar que los radicales libres no son siempre dañinos, también pueden ser beneficiosos, ya que cumplen funciones sustanciales en los organismos vivos, dependiendo de sus concentraciones. una de las funciones más importantes de los radicales libres incluyen la eliminación (apoptosis) de células defectuosas y la señalización a nivel celular, para que un radical libre tenga uno u otro efecto dependerá mucho de sus concentración en que se encuentra. Cuando se encuentra en concentraciones bajas a moderadas serán beneficiosos, mientras que a concentraciones altas serán perjudiciales.

La Dra. Sara T.Q. Dr. Armando B. V, Lic. Marta V. A, Dra. Odalys A.L, Sostiene que los radicales libres constituyen potentes agentes oxidantes, son altamente reactivos, que son neutralizados por las defensas antioxidantes. Cuando ocurre un desequilibrio entre los agentes oxidantes y antioxidantes con un predominio del primer agente, se denomina que existe un estrés oxidativo, esto produce un efecto lesivo a macromoléculas biológicas tan importantes como son las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Se hace referencia principalmente a los sistemas de defensa antioxidantes y a los mecanismos fundamentales mediante los cuales éstos actúan para el control oxidativo. (20)

En el organismo humano los radicales libres se producen en el momento que ocurre el metabolismo aeróbico celular, se realiza a través de reacciones enzimáticas, dentro de este metabolismo A. está incluida la cadena respiratoria, la síntesis de prostaglandinas y el sistema del citocromo P450. Por otra parte los radicales libres también se generan "accidentalmente" a partir de reacciones no enzimáticas como las que se producen por reacción del oxígeno con compuestos orgánicos o las iniciadas por radiaciones ionizantes. El medio que nos rodea también expone a nuestro organismo con los agentes oxidantes ambientales como el ozono, el humo del tabaco.

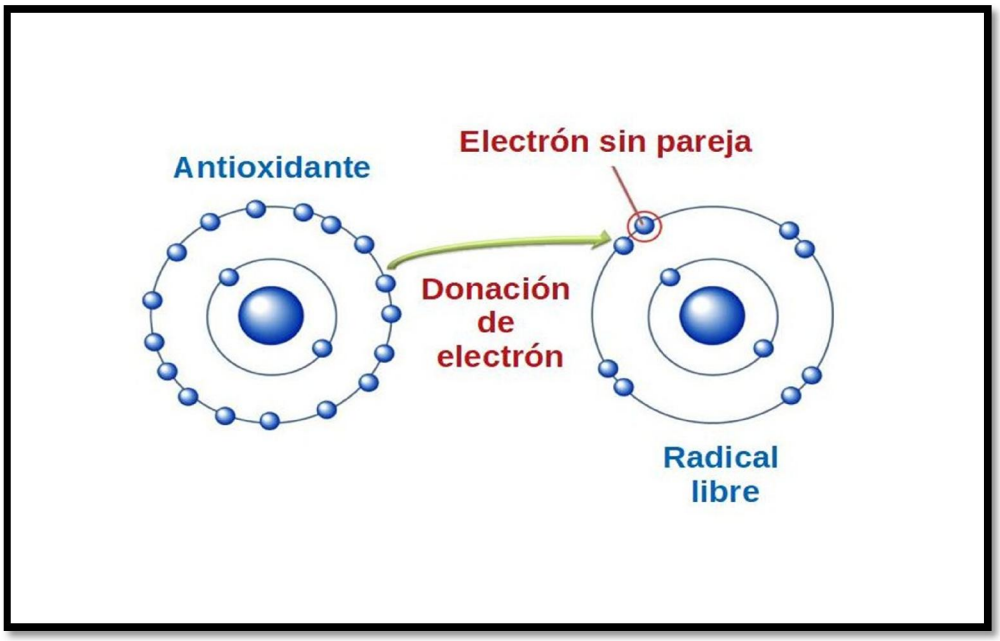


Figura (4). Sistema de defensa Antioxidante. Colsalud.com/antioxidantes-explicado-en-términos-humanos.

2.1.2.4 Metabolito secundario

Las plantas producen una gran variedad de compuestos bioactivos y metabolitos secundarios como medio de defensa al ataque de insectos, microorganismos y de adaptación a ambientes adversos, Entre los metabolitos que han demostrado influir en la producción de metano se encuentran: saponinas, taninos, compuestos organosulfurados, aceites esenciales, ligninas, alcaloides, antioxidantes.

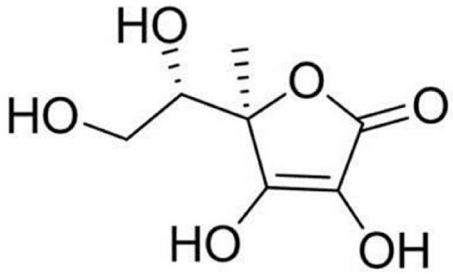
Son sustancias que poseen naturaleza química variable, producidas por algunas especies en su fase tardía de crecimiento, algunos de ellos se puede mencionar a los pigmentos microbianos, toxinas microbianas y los antibióticos. (21)

Adolfo Á.G, Elena P,C. sostiene que los metabolitos secundarios son derivados del metabolismo secundario, estos metabolitos se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Reciben también la denominación de productos naturales. (22)

2.1.2.5 Antioxidante

Molécula con capacidad de prevenir o retardar la oxidación de otras moléculas, como los sustratos biológicos proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. La oxidación de los sustratos iniciara por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres, y aquellas especies que, sin ser radicales libres, son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de sustratos. (23)

Estas sustancias pueden considerarse como blancos sacrificables en beneficio de la protección de moléculas de alta importancia biológica como son las membranas celulares, las proteínas y el ADN. Es muy importante e interesante para que un compuesto químico



Ácido ascórbico (Vitamina C)

Figura (5). Vitamina C ejemplo de antioxidante (Plantas acuario.es) (24)

llegue a tener una buena actividad antioxidante, debe presentar o tener una reactividad química mayor a las especies a las que se quiere proteger para así poder reducir con mayor efectividad a los radicales libres, así mismo deben tener la capacidad de terminar dicha reacción en cadena que pudieran provocar los radicales libres. Cuando el compuesto químico no posee esta capacidad por lo menos su reacción con los radicales libres que se encuentren presentes en el entorno biológico deberán dar lugar a radicales de baja reactividad y por tanto radicales resultaran menos dañinos que los que se forman naturalmente en los organismos vivos.

Clinics in Dermatology (2009) define a un antioxidante como una sustancia que impide la oxidación de otra sustancia, se entiende por oxidación no solo al ataque del oxígeno a una sustancia, sino que es una reacción química en donde hay presencia de una transferencia de electrones desde una sustancia denominada donante de electrones a otra sustancia

susceptible denominada receptora. El proceso de oxidación es una pérdida de electrones y tiene que ir acoplada a una reducción o aceptación de los electrones cedidos. Un ejemplo común es la introducción de una lámina de zinc en una solución de sulfato de cobre, el Zinc cede un par de electrones al ion Cu++ que precipita en forma de cobre metálico, mientras que el zinc pasa a Zn++. Se dice que el zinc se ha oxidado, mientras que el cobre se ha reducido. (25)

- **Antioxidantes primarios o tipo I.** Los antioxidantes Primarios cumplen la función de prevenir la oxidación por una reacción directa con los radicales libres produciendo especies significativamente menos reactivas o terminando la reacción en cadena. estos antioxidantes son también conocidos como "free radical scavengers", o sea "atrapadores de radicales libres".
- **Antioxidantes secundarios o tipo II.** este grupo de antioxidantes secundarios retardan la oxidación por vías de acciones indirectas, por ejemplo la quelación de metales, reparación de antioxidantes primarios donándoles átomos de H o electrones, descomposición de H2 O2 en especies no radicalarias y la absorción de luz ultravioleta.(26)

2.1.2.6 Radicales libres

Especie de átomo, molécula o ión que tiene como mínimo un electrón desapareado en su orbital más externo, y a si mismo tienen la capacidad de existir en forma independiente. Los radicales libres son sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células, produciendo la oxidación de sus partes, alteraciones en el ADN, y que provocan cambios que aceleran el envejecimiento del cuerpo.

Los radicales libres se liberan durante el metabolismo humano, y también se producen por contaminantes ambientales, (atmosféricos, acuáticos, de suelos), radiaciones (ultravioleta, gamma, hertziana), entre otros. Se pueden relacionar con el consumo o uso de tóxicos como el alcohol, tabaco y drogas o debido a una alimentación no adecuada, exposición a fertilizantes o pesticidas. Se incluye además el metabolismo de algunos químicos y elevado estrés físico o psíquico. (27)

2.1.2.7 Metabolito secundario

Son sustancias orgánicos sintetizados por el organismo que no poseen un rol directo en el crecimiento o reproducción de la planta. A diferencia de lo que sucede con los

metabolitos primarios, sin embargo cumplen una función muy importante como mecanismo de defensa ante agentes mecánicos como insectos o animales. (28)

2.1.2.8 Los terpenos

Son compuestos de forma general CnH2n-4, derivados de la serie del isopreno, que en su estructura poseen dos dobles enlaces y que enlazados por cadenas orgánicas constituyen un grupo de compuestos con características peculiares lo cual determinan la variedad de los efectos terapéuticos que se atribuyen a las diversas plantas que la contienen. Principalmente esta constituidos por los aceites esenciales de distintas plantas, cuyas estructuras poseen relación con el cimeno (para-metilisopropilbenceno). La clasificación se da por el número de unidades básicas de isoprenos que contienen.

La mayoría de las plantas sintetizan y liberan terpenos, unos compuestos orgánicos volátiles que desempeñan diversas funciones ecológicas y que tienen importantes repercusiones ambientales. Se sabe que los terpenos confieren protección a las plantas al evitar la depredación por los herbívoros y contrarrestar las condiciones oxidantes de las sequías o la contaminación. Al mismo tiempo, acarrean consecuencias negativas en la calidad del aire o el riesgo de incendio.

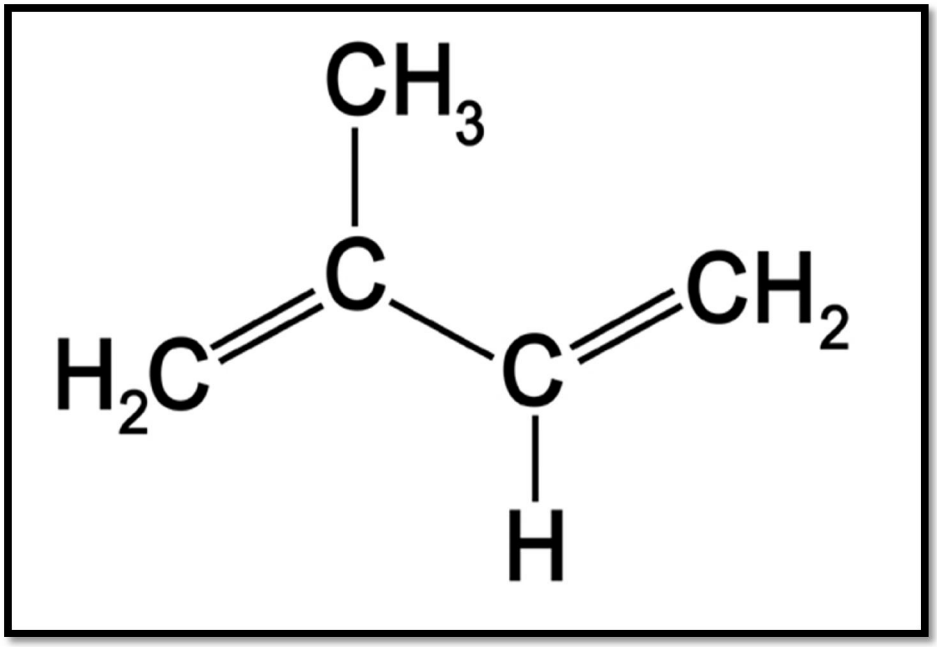


Figura (6). Estructura química de un terpeno derivado del isopreno, en su estructura presenta dos dobles enlaces.

Los terpenos son clasificados como metabolitos secundarios que dan las características organolépticas (aroma y sabor) de las plantas y que constituyen la mayor parte del aceite esencial producido por las plantas aromáticas. En las plantas los terpenos ejercen distintas funciones, las dos principales son la protección frente a los insectos y animales herbívoros y la protección contra las temperaturas elevadas. Las plantas reaccionan produciendo terpenos en las zonas depredadas por los insectos y los animales herbívoros que actúan como compuestos amargos que inhiben la depredación repeliendo los insectos y los animales herbívoros, e incluso pueden actuar en algunos casos como insecticida. Los monoterpenos, más volátiles dominan en inflorescencias para repeler a los insectos y los sesquiterpenos, más amargos, que dominan en las hojas para que actúe contra los animales herbívoros. Algunos terpenos en algunas plantas pueden actuar como reclamo atrayendo insectos beneficiosos para la planta, ya sean polinizadores o depredadores de otros insectos herbívoros. Las plantas, a medida que notan un incremento de temperatura, empiezan a sintetizar más terpenos, y a temperaturas elevadas durante la noche o el día se liberan mayores cantidades de terpenos.

Los terpenos no son únicamente responsables de aportar el aroma de la planta, sino que tienen una importante actividad biológica y terapéutica por ellos mismos. Está científicamente demostrado que los aceites esenciales de las plantas tienen propiedades terapéuticas y conforman la base farmacológica de la aromaterapia. Estos aceites y los terpenos puros no solo se pueden utilizar por la aromaterapia sino que están aprobados como saborizantes en la industria alimentaria siendo compuestos no tóxicos. Las propiedades terapéuticas dependerán específicamente del terpeno en cuestión.

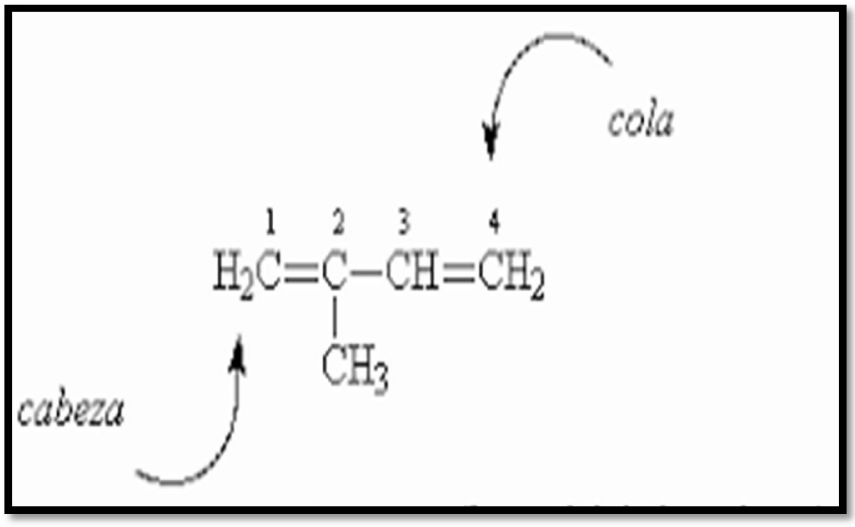


Figura (7). Estructura del *Isopreno (2-metil-1,3-butadieno)*

2.1.2.9 Triterpenos

Los triterpenoides están compuestos principalmente por agliconas con 30 átomos de carbono (Oleanano). Entre los Triterpenos se encuentran esteroides y esteroles derivados del escualeno, una molécula de cadena lineal de 30 C de la que derivan todos los triterpenos cíclicos. (29)

Los triterpenos (30 átomos de carbono) son compuestos naturales que se construyen a partir de seis unidades de isopreno. Los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y desempeñan un papel importante en la naturaleza. Desde una perspectiva biológica, se asume que los esqueletos del olaneano, ursano y lupano son las más importantes dentro de los triterpenos. Dichas estructuras policíclicas pueden encontrarse, ya sea en su estado libre o en forma de glicósidos. Como consecuencia, presentan una gran diversidad estructural. Hasta ahora, se conocen alrededor de 100 diferentes tipos de esqueleto en la naturaleza y cientos de derivados han sido sintetizados. (30)

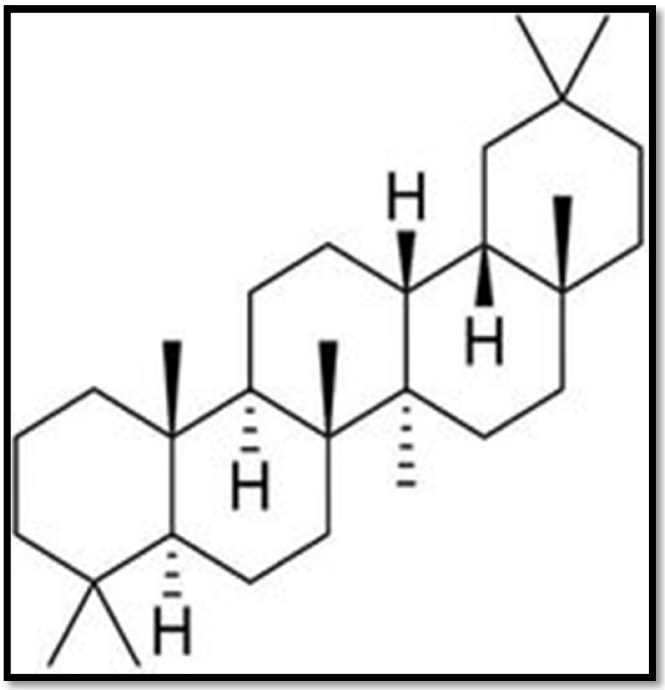


Figura (8). Estructura básica de un triterpeno.

2.1.2.10 Flavonoides

Provienen del latín flavus y significa de color entre amarillo y rojo, como el de la miel o el del oro; es un grupo aromático, pigmentos heterocíclicos que contienen oxígeno ampliamente distribuido entre las plantas, constituyen la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas. Los flavonoides están compuestos de dos anillos fenilos (A y B), ligados mediante un anillo pirano (C). Lo cual nos deja en un esqueleto de difenilpiranos: C6-C3-C6, común en la mayoría de los flavonoides. (31)

Los flavonoides son compuestos fenólicos que representan constituyentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. Se encuentran naturalmente en vegetales, bayas, frutas, vino y cerveza. Hay más de 5000 flavonoides diferentes. La ingesta media depende del país pero la ingesta media es de aproximadamente 23 mg/día; la quercetina es predominante a 16 mg/día. Inicialmente, los flavonoides se consideraron sustancias sin ningún beneficio para los humanos. Posteriormente, se ha informado que ejercen múltiples efectos biológicos debido a sus capacidades antioxidantes y de eliminación de radicales libres. (32)

Farmacológicamente, los flavonoides destacan por su baja toxicidad, presentando en general actividad sobre el sistema vascular con acción vitamínica P (efecto protector de la pared vascular, debido a la disminución de la permeabilidad y al aumento de la resistencia de los capilares). Asimismo, tienen efecto antioxidante, pueden inhibir la peroxidación lipídica, poseen efectos antimutagénicos y tienen la capacidad de inhibir diversas enzimas. La acción antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su capacidad de reducir radicales libres y quelar metales, impidiendo las reacciones catalizadoras de los radicales libres. También actúan inhibiendo sistemas enzimáticos relacionados con la funcionalidad vascular como: la catecol O-metil transferasa (COMT),

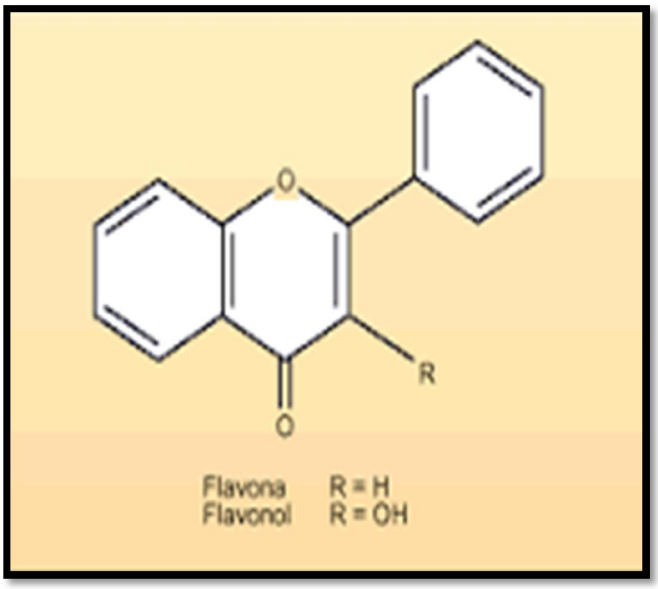


Figura (9). Estructura Química de un flavonoides tipo flavona y flavonol.

El efecto antioxidante de los flavonoides proviene de la acción conjunta de sus características quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres (RL), también a la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (CO), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO); de esta manera se evita la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) in vivo, al igual que de hidroperóxidos orgánicos.

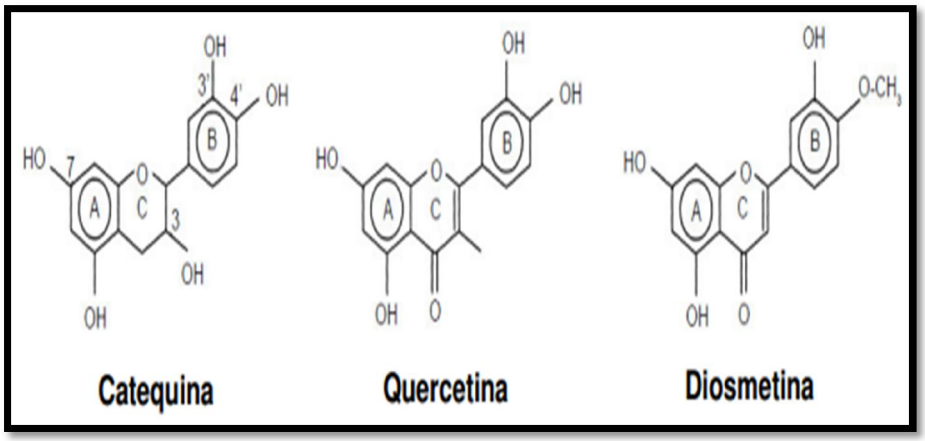
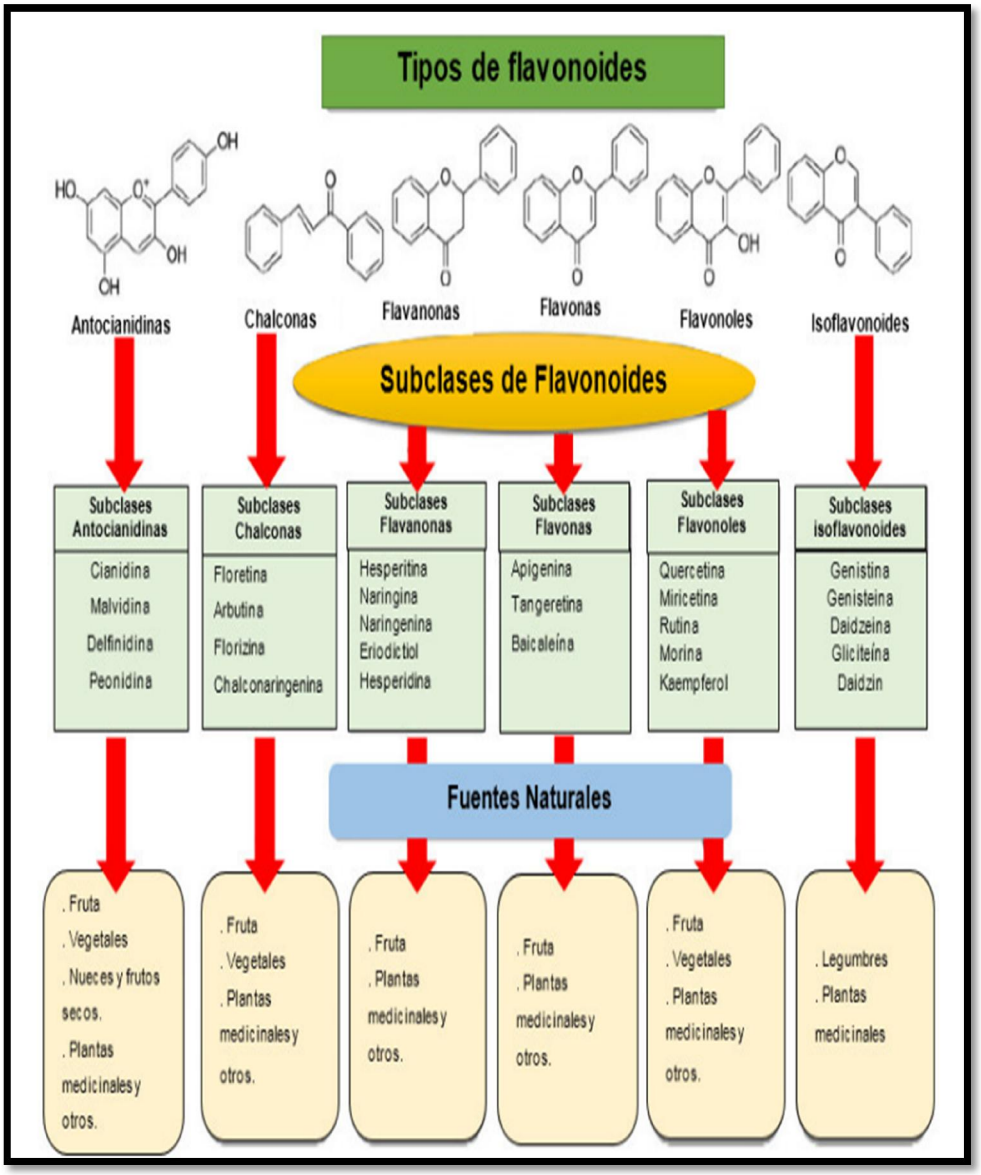


Figura (10). Compuestos con Actividad antioxidante.

Los tipos de flavonoides están relacionados por una vía biosintética común, la que incorpora precursores de las rutas del shikimato y la acetato-malonato. Posteriores modificaciones ocurren en varios estados, lo que resulta en la extensión de la hidroxilación, metilación, isoprenilación, dimerización y glicosilación, produciendo O y C-glicósidos.



Figura

Figura (11). Tipos de flavonoides, subclases y fuentes naturales. (Linares García J. Universidad de Oviedo julio 2022) (33)

Los flavonoides pueden prevenir las lesiones causadas por los radicales libres por los siguientes mecanismos: captación directa de ERO, activación de enzimas antioxidantes, actividad quelante de metales, reducción de los radicales α-tocoferilo, inhibición de las oxidasas, mitigación del estrés oxidativo causado por el óxido nítrico, aumento de los niveles de ácido úrico, aumento de las propiedades antioxidantes de los antioxidantes de bajo peso molecular.

Las propiedades beneficiosas de la Quercetina se relacionan estrechamente con su estructura química, que le confiere propiedades antioxidantes. Actúa como protector frente a las especies reactivas de oxígeno, mediante la neutralización de radicales libres como aniones superóxido, óxido nítrico y peroxinitritos entre otros. El efecto antioxidante también podría deberse a su capacidad para inhibir enzimas como la xantina oxidasa, lipooxigenasa y NADPH oxidasa, impidiendo la muerte celular. Además, puede incrementar la producción de antioxidantes endógenos

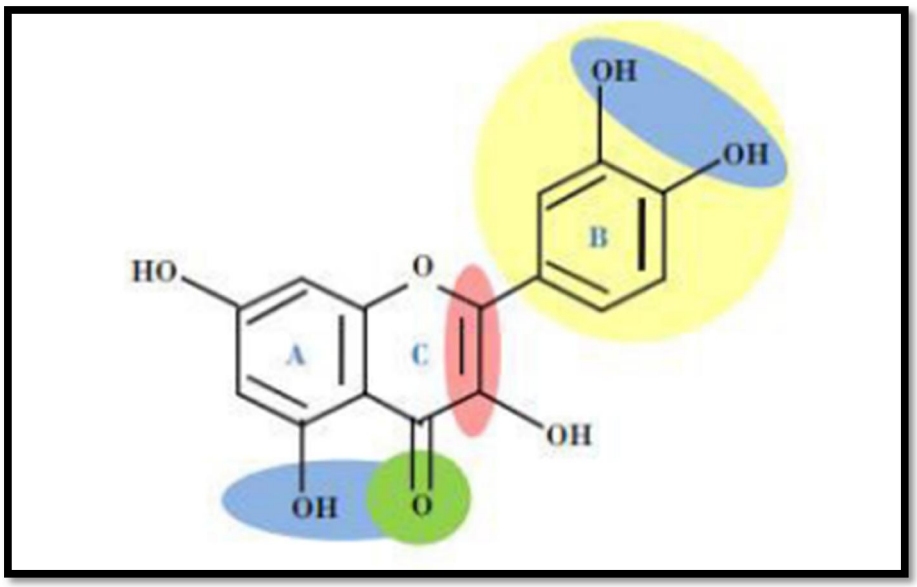


Figura (12). Muestra la estructura química de la quercetina mostrando los grupos

Funcionales que le confieren su actividad antioxidante. La parte amarilla muestra el grupo catecol del anillo B; en Rojo muestra el enlace insaturado del anillo C; el verde función de 4-oxo en el anillo C; en azul, puntos con capacidad de quelación de metales.

Este compuesto se caracteriza dentro de la familia de los flavonoides por presentar el potencial antioxidante mayor dentro de este grupo. El potencial antioxidante de la quercetina radica en la presencia de cinco grupos OH que pueden representar un sitio de

ataque para el proceso de radicalización realizado por el radical peróxido lipídico. Este antioxidante se encuentra en plantas y alimentos de origen vegetal, presenta una coloración amarillo-verdoso y tiene una biodisponibilidad alta.

2.1.2.11 Alcaloides

Son compuestos químicos de origen vegetal en su gran mayoría, aunque se sabe también que existen protoalcaloides que son de origen animal. Existen 5000 alcaloides diferentes que pueden ser usados como analgésicos, anestésicos, curativos o psicotrópicos que actúan sobre el SNC en algunos de ellos ejercen un gran poder adictivo y excitante. Los alcaloides más importantes son la cafeína, la cocaína, la heroína, la morfina, la nicotina y la quinina.

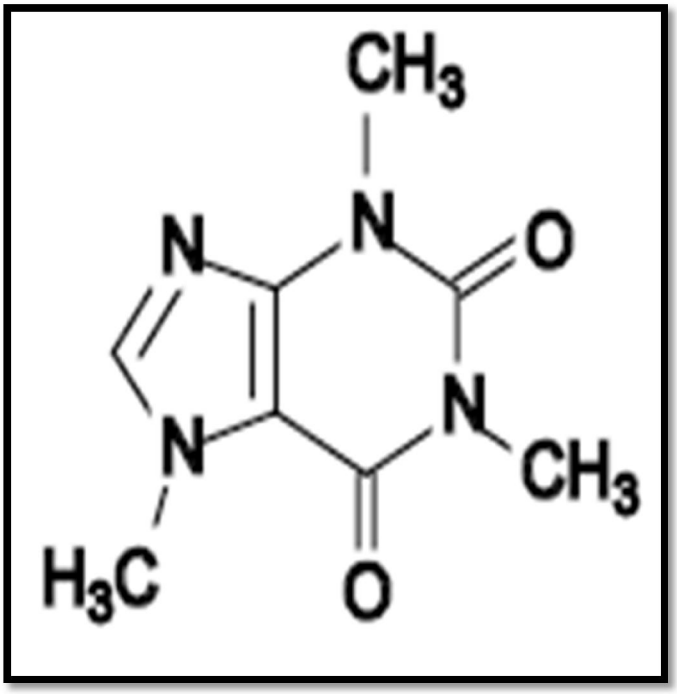


Figura (13). Estructura química de los alcaloides.

Los alcaloides son, en general, metabolitos secundarios producidos por un organismo vivo como parte de su mecanismo de adaptación a un ambiente y, a menudo, relacionados a procesos inmunitarios o de regulación. Los alcaloides son un grupo muy amplio de sustancias que se encuentran en la naturaleza y que contienen uno o más átomos de nitrógeno en un anillo heterocíclico. Este tipo de moléculas pueden ser producidas por bacterias, plantas o animales, y se pueden clasificar de distintas formas según su estructura o función. (33)

Los alcaloides son metabolitos secundarios que pertenecen a un grupo de suma importancia en la farmacognosia, en este grupo están sustancia toxicas ya sean a dosis pequeñas o a altas dosis, remontándonos a la historia el primer alcaloide ailsado fue la Morfina en 1805, ya para el siglo 19 se podían aislarse debido a su complejidad, desde ese entonces se ha logrado aislar más de 5000 Alcaloides. Los alcaloides Cumplen diversas funciones en las plantas que la contienen y la especie Argemone mexicana no es ajena a estas funciones como defensas naturales contra animales y hongos, así mismo suelen producir efectos fisiológicos en los animales que también afectan a los seres humanos. La gran mayoría de plantas medicinales con actividades tóxicas y alucinógenas es producida por la actividad biológica de los alcaloides. El efecto se debe agracias a la dosis y la duración del tratamiento, a lo largo del tiempo sus usos se a subdividido como pueden ser desde los analgésicos, anestésicos, curativos o psicotrópicos, hasta producir la muerte.

2.1.2.12 Estrés oxidativo.- El estrés oxidativo es un proceso que se produce en nuestro cuerpo debido a un exceso de radicales libres presentes en ello, y a la falta acción por parte de los antioxidantes para contrarrestarlos. El incremento de estos radicales libres y de oxígeno en nuestro cuerpo da lugar a que nuestras células se oxiden con facilidad, afectando a sus funciones y dañándolas. los síntomas de estrés oxidativos comienzan a notarse cuando se produce o hay un exceso de radicales libres y no hay suficientes antioxidantes para contrarrestar sus efectos.

1. **Envejecimiento prematuro:** aparecen arrugas y manchas en la dermis y la piel pierde su tersura habitual.
2. **Problemas de memoria:** el cerebro puede empezar a funcionar de manera deficiente, comienzan los episodios de olvido y la pérdida de memoria de manera descontrolada.
3. **Cambios físicos:** Es posible que esto nos genere mayor rigidez en las articulaciones, pérdida de la fuerza muscular y problemas de movilidad.
4. **Problemas cardiovasculares:** la oxidación celular puede provocar arritmias y alteraciones en la tensión.

El estrés oxidativo juega un papel importante en el desarrollo de enfermedades crónicas y degenerativas como la artritis, cáncer, envejecimiento, enfermedades cardiovasculares - neurodegenerativas y trastornos autoinmunes.

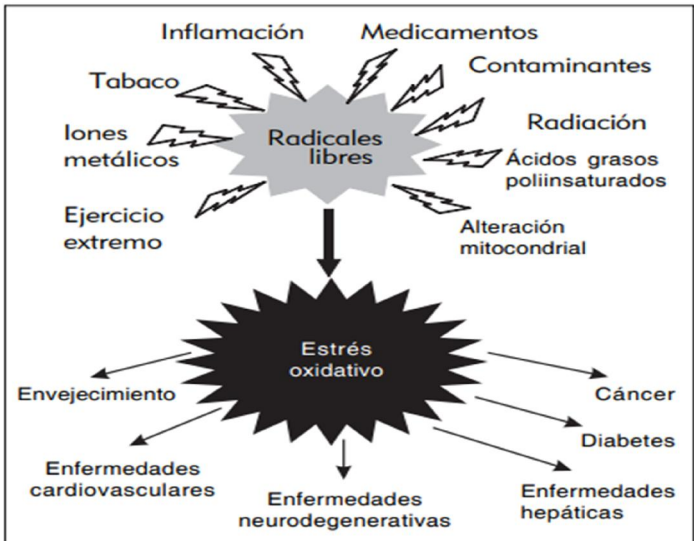
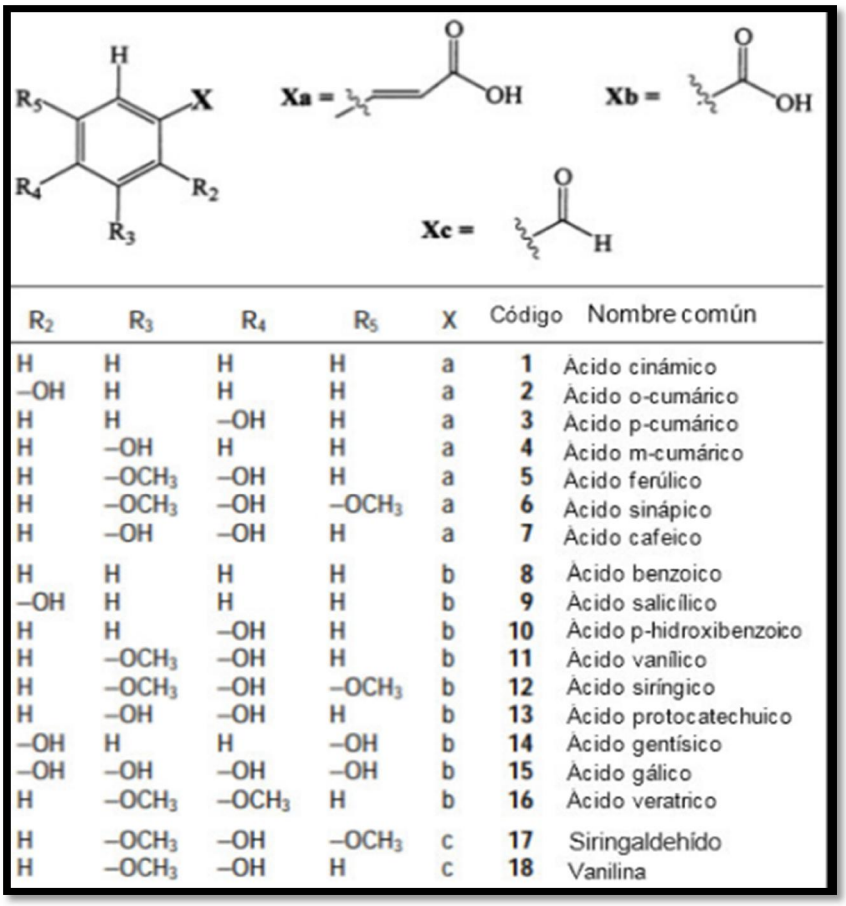


Figura (14). Generación exógena de radicales libres y sus enfermedades. (Sanchez V. Rev Invest Med Sur Mex, Julio-Septiembre 2013; 20 (3): 161-16) (35)

2.1.2.13 Ácidos fenólicos.- La actividad antioxidante de las plantas se debe al contenido de ácido fenólico, especialmente al cafeico y p-cumárico. La mayor actividad antioxidante del ácido cafeico proviene de la posición 3,4 de la dihidroxilación en el anillo fenólico. Aunque la naturaleza exacta de los efectos antioxidantes o protectores in vivo no está bien establecida, se han llevado a cabo algunas investigaciones preliminares. Los ácidos cafeico, ferúlico, cloragénico y sinapico de átomos de carbono Estructura Clase 6. C6 Fenoles 7. C6-C1 Ácidos fenólicos8. C6-C2 Ácidos fenilacéticos 9. C6-C3 Fenilpropanoides, Cumarinas, Isocumarinas 10. C6-C4 Naftoquinonas 13. C6-C1-C6 Xantonastf 14. C6-C2-C6 Antraquinonas 15. C6-C3-C6 Flavonoides 18. [C6-C3]2 Lignanos 30. [C6-C3-C6]2 Bioflavonoides n. [C6-C3-C6]n Taninossd n. [C6-C3]n Ligninas, son los Principales compuestos fenólicos que muestran efectos antioxidantes o protectores in vivo por varios mecanismos. Se cree que el modo predominante es la captura de radicales a través de donación de átomos de hidrógeno, mecanismos de extinción de radicales mediante donación de electrones y extinción de oxígeno.



R_2	R_3	R_4	R_5	X	Código	Nombre común
H	H	H	H	a	1	Acido cinámico
–OH	H	H	H	a	2	Acido o-cumárico
H	H	–OH	H	a	3	Acido p-cumárico
H	–OH	H	H	a	4	Acido m-cumárico
H	$–OCH_3$	–OH	H	a	5	Acido ferúlico
H	$–OCH_3$	–OH	$–OCH_3$	a	6	Acido sinápico
H	–OH	–OH	H	a	7	Acido cafeico
H	H	H	H	b	8	Acido benzoico
–OH	H	H	H	b	9	Acido salicílico
H	H	–OH	H	b	10	Acido p-hidroxibenzoico
H	$–OCH_3$	–OH	H	b	11	Acido vanílico
H	$–OCH_3$	–OH	$–OCH_3$	b	12	Acido siríngico
H	–OH	–OH	H	b	13	Acido protocatechuico
–OH	H	H	–OH	b	14	Acido gentísico
–OH	–OH	–OH	–OH	b	15	Acido gálico
H	$–OCH_3$	$–OCH_3$	H	b	16	Acido veratrico
H	$–OCH_3$	–OH	$–OCH_3$	c	17	Siringaldehído
H	$–OCH_3$	–OH	H	c	18	Vanilina

Figura (15). Compuestos fenólicos que muestran efectos antioxidantes.

2.1.3 Descripción de la Situación Problemática

Argemone mexicana L. pertenece a la clase de las Dicotiledóneas de Magnoliopsida, es una planta exótica autóctona de América del Sur, pero se ha distribuido en muchas zonas tropicales y subtropicales. Crece en su forma natural en la sierra peruana y desde la época de los incas se usaba para calmar los dolores de las diversas dolencias de la población incaica. (34)

Los pobladores de la provincia de Churcampa departamento de Huancavelica, comentan que la planta les sirve para calmar molestias que son generadas por el trabajo en el campo, desde mucho antes que llegara a ellos los medicamentos. Su consumo se realiza en forma de infusión y emplasto de toda la planta entera. los pobladores aún desconocen sus distintas actividades terapéuticas, es así como surge la inquietud de investigar la composición química, determinación de su actividad antioxidante presente en las hojas, tallo, flores de *Argemone mexicana* para darle un conocimiento en base científica de esta planta. Nuestra Investigacion se complementa gracias a los artículos publicados en donde

se afirma variedad de actividades farmacológicas que tiene la especie Argemone mexicana “cardo Santo”.

2.1.4 Formulación del Problema

Problema General

¿Tendrá actividad Antioxidante el extracto etanolico de la especie *Argemone mexicana*?

Problemas específicos

¿Qué metabolitos secundarios presentara el extracto etanolico de las partes aéreas de la especie *Argemone mexicana*?

¿Porque métodos presentara mayor actividad antioxidante el extracto etanolico de la especie *Argemone mexicana*?

Es preciso realizar esta investigación respecto a esta especie de planta, para comprobar científicamente las propiedades atribuidas, ya que en la actualidad se sabe que es muy utilizada para diversas patologías por los pobladores de la provincia Churcampa.

2.1.5 Justificación e Importancia de la Investigacion.

Desde tiempos antiguos los pobladores de la sierra utilizan la planta *Argemone mexicana* como medicina tradicional, desconociendo que otras acciones beneficiosas le puede brindar para su salud, así mismo para mejorar su calidad de vida, esta especie se utiliza desde tiempos antiguos como emplastos para aliviar los dolores reumáticos y artríticos. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo investigar la composición química y la actividad Antioxidante del extracto etanolico de la especie *Argemone mexicana*; además de establecer su actividad antioxidante, que puedan servir y tener en cuenta en el mundo moderno que está a la búsqueda de productos naturales que puedan ayudar a combatir las enfermedades y malestares como el dolor y de tipo degenerativas, que hacen padecer a nuestra sociedad, esta investigación busca tener tratamientos que generen una menor probabilidad de reacciones adversas. Asimismo se debe resaltar una de las actividades más importantes de esta especie que es su actividad Antioxidante que nos ayudara a tener un mejor panorama que nos ayudara a orientar su uso adecuado dentro de la industria farmacéutica.

2.1.6 Importancia

El presente trabajo es muy importante porque nos permitirá conocer la composición química, la actividad Antioxidante de la especie *Argemone mexicana*, que a partir de ello se podrán realizar nuevas investigaciones para darle nuevas utilidades terapéuticas que podrán beneficiar a los pobladores de la provincia de Churcampa departamento de Huancavelica.

2.2 Objetivos de la investigación

Objetivo general

Determinar la actividad Antioxidante del extracto etanólico de las flores, hojas y tallo de *Argemone mexicana*.

Objetivos específicos

- Determinar la presencia de metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas, tallo y flores de *Argemone mexicana*.
- Establecer la actividad antioxidante del extracto etanolico de las hojas, tallo y flores de "*Argemone mexicana*" por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP.
- Identificar el método antioxidante que presenta mayor actividad en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Argemone Mexicana* "Cardo Santo".

2.3 Hipótesis y Variables de la Investigacion

2.3.1 HIPOTESIS

2.3.1.1 Hipótesis General

La especie *Argemone Mexicana* (Cardo santo) de la provincia de Churcampa departamento Huancavelica, presenta Actividad Antioxidante diferente a las especies estudiadas en la ciudad de México según reporta la bibliografía.

2.3.1.2 Hipótesis Específica

El extracto etanólico de las partes aéreas de la planta *Argemone Mexicana* "Cardo Santo" presenta actividad antioxidante en los 3 métodos analizados.

2.3.2 VARIABLES

2.3.2.1 Variable independiente:

Extracto etanolico de *Argemone Mexicana* "cardo santo" de la provincia de Churcampa

2.3.2.2 Variable dependiente:

Actividad antioxidante

- **Operacionalización de variables**

VARIABLE	INDICADOR	INDICE
Independiente: Extracto etanolico ARGEMONE MEXICANA " CARDO SANTO"	Solidos totales Cenizas Color Aspecto Metabolitos secundarios	Gramos gramos Nominal Nominal Reacciones de coloración/precipitación
Dependiente: Actividad antioxidante	DPPH FRAP ABTS	IC_{50} TEAC TEAC

Fuente: Dados del autor

2.4 Estrategia Metodológica

2.4.1 Tipo y diseño de la Investigacion

Investigación Básica

2.4.1.1 DISEÑO DE INVESTIGACION

Está basada en una colección de distintos diseños de investigación en la que se utiliza las pruebas controladas que nos permitirán conocer cada proceso causal. Las variables son manipuladas para conocer su efecto sobre la variable dependiente. El investigador manipula, experimenta una variable y controla/aleatoriza el resto de variables. El investigador tendrá un grupo control en donde los sujetos son asignados al azar entre los grupos y el investigador, se realiza un efecto a la vez.

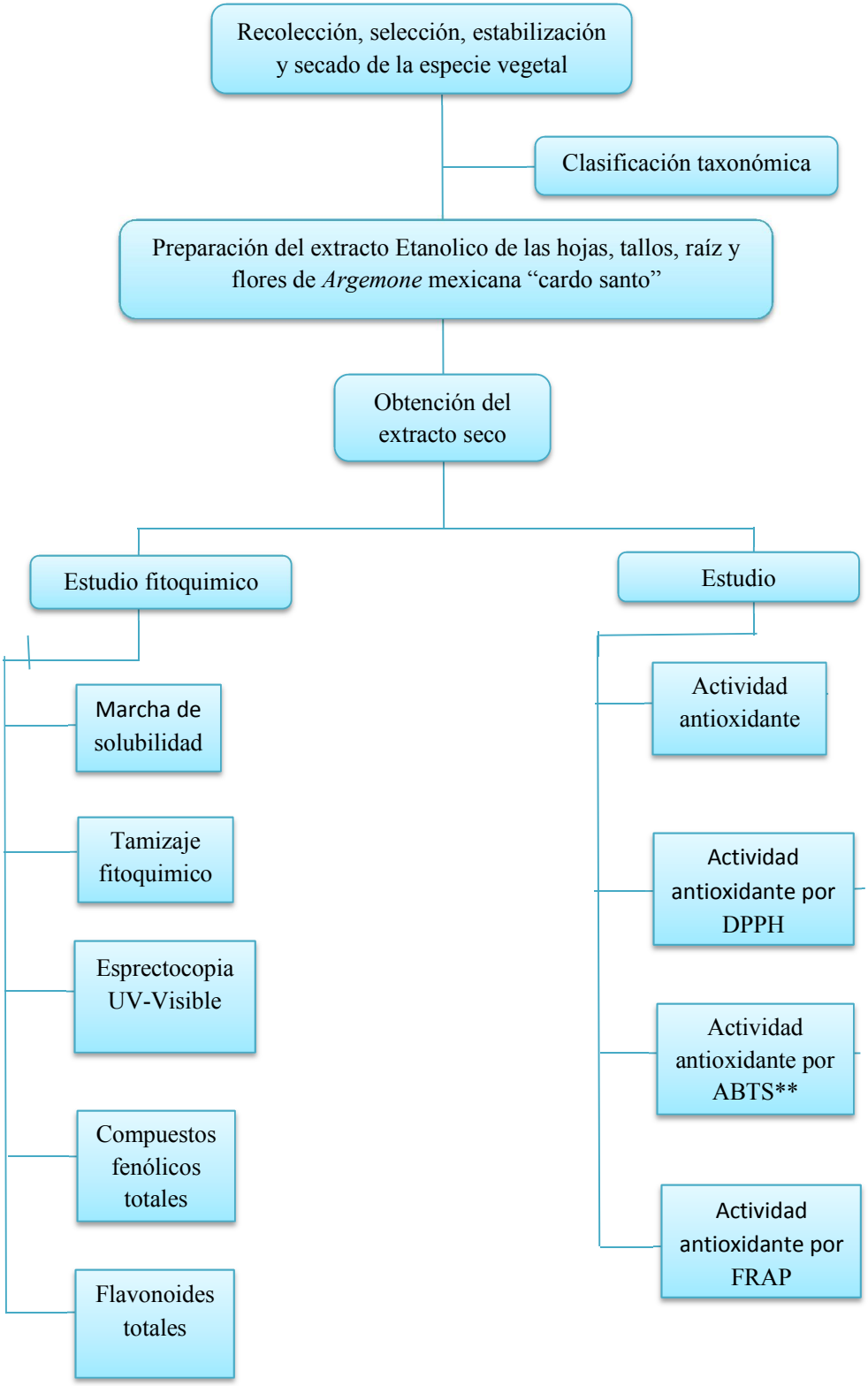


Grafico 1 pasos para la obtención de la muestra vegetal y su posterior estudio.

2.4.2 Técnicas e Instrumentos de recolección de la información

2.4.2.1 Recolección del material vegetal.

Para la recolección de la especie vegetal *Argemone mexicana*, el autor realizo un viaje a la provincia de Churcampa Departamento de Huancavelica. El proceso de recolección se realizó durante las primeras horas de la mañana para evitar el exceso de exposición de la planta a la luz solar ya que esta misma luz podría alterar la concentración de metabolitos que nos interesan en la investigacion, Para la recolección de la muestra se debe tener algunos materiales que nos facilitara la recolección de muestra, como por ejemplo una tijera de podar y bolsas de papel Kraft y guantes dobles para evitar las espinas, una vez recolectada una cantidad considerable de la especie vegetal se procedió a colocarla en sacos hechos de papel Kraft para luego ser transportada a la ciudad de Ica y posterior a las instalaciones de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga".

2.4.2.2 Tratamiento de la muestra

Selección: Se realizó posterior a la recolección de la especie vegetal, en donde se procedió a seleccionar las partes de la muestra vegetal de mejor calidad, las mismas que fueron seleccionadas cuidadosamente en bolsas de papel Kraft para evitar daño alguno evitando los procesos de riesgo como la descomposición y contaminación de la planta.

Limpieza: Para este proceso utilizamos las instalaciones del laboratorio de análisis instrumental y control de calidad de la Facultad de farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga para proceder con la limpieza fue muy necesario tener nuestra agua destilada con el fin de eliminar los residuos de tierra, suciedad u otras materias procedentes propias del campo; es un proceso muy importante porque conlleva a determinar el buen estado de la planta con la finalidad de evitar posteriores interferencias o alteraciones.

Secado: Una vez obtenida nuestra especie vegetal limpia y seleccionada procedimos con el proceso de secado que se pudo realizar mediante el secado artificial o como en nuestro caso el secado natural a temperatura ambiente que se realiza bajo sombra con la finalidad que los componentes de la muestra vegetal no sufran ninguna alteración en cuanto a su concentración de principios activos, la muestra fue distribuida sobre una superficie de papel Kraft por un periodo de 15 días que en el mismo transcurso se fue moviendo y volteando las partes de muestra vegetal para obtener un secado más homogéneo y a la misma vez verificamos que nuestra muestra vegetal no se deteriore.

Conservación: Para la conservación de nuestras muestras se almacenarón en bolsas confeccionadas de papel Kraft para su posterior estudio.

Triturado.-Una vez transcurrido el tiempo y con nuestra especie vegetal completamente seca, se procedió a cortar (con unas tijeras de podar) y luego triturar las partes aéreas de la planta, con un molino mecánico. El proceso de trituración de las partes aéreas de la especie *Argemone mexicana* "cardo santo" fue de mucha importancia para llevar a cabo el proceso de maceración.

Maceración.- En el proceso de maceración se utilizó la muestra vegetal triturada y etanol de 96°, para ello dispondremos de envases de vidrio para su maceración por un periodo de 15 días, así mismo este envase fue cubierto o forrado por papel aluminio con la finalidad de evitar su exposición con la luz del ambiente. Una vez transcurrido los 15 días el macerado lo procesamos en un evaporador rotatorio para facilitar la concentración del extracto y recuperamos parte del etanol como reciclado. Nuestro macerado ya concentrado es colocado en una bandeja para su posterior secado y continuar con el tamizaje Fitoquimico.

2.4.2.3 Tamizaje fitoquímico

El tamizaje o screening fitoquímico, es una de las fases iniciales en la investigación de las variedades de especies vegetales, que nos permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una determinada especie de planta, así mismo nos ayudara a orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. El Screening fitoquímico de una muestra vegetal se realiza mediante una extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y precipitación. (34)

- ✓ **Maceración de la Especie Argemone mexicana "Cardo Santo"**

Figura (16). Muestra vegetal de las partes aereas de la especie vegetal *Argemone mexica* colocadas en un envase de vidrio .

Figura (17): Muestra vegetal mas etanol de 96° listo para su maceracion por un periodo de 15 días envuelta en papel aluminio con el fin de evitar su exposicion a la luz (el etanol debe cubrir por completo la muestra).

Figura (18). Reposision del metanol evaporado y cambio del papel aluminio que envuelve al envase.

- ✓ **Filtrado de la Especie Argemone mexicana "Cardo Santo"**

Figura (19) y Figura (20). Filtrado de la especie *Argemone mexicana* "cardo santo". .

- ✓ **Concentración de la Especie *Argemone mexicana* "Cardo Santo" mediante un Evaporador Rotatorio**

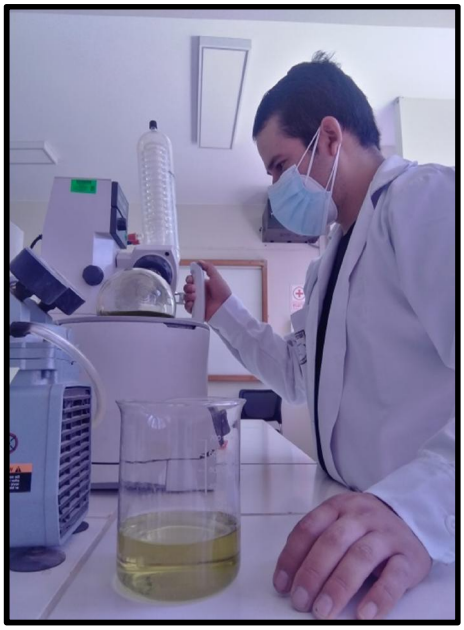


Figura (21) y Figura (22). Eliminacion del disolvente a presion reducida en un evaporador rotatorio marca Buchi.

- ✓ **Secado del Extracto Etanolico de la Especie *Argemone mexicana* "Cardo Santo"**

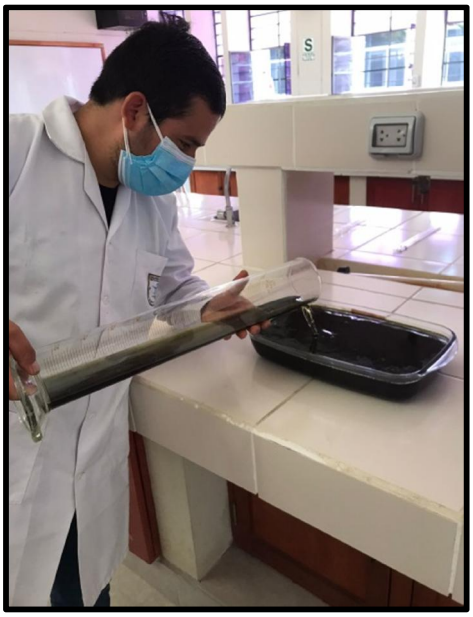


Figura 23 y 24. Obtención del extracto seco.

2.4.2.4 Determinación de grupos funcionales.

2.4.2.4.1 Obtención de Fracciones

Procedimiento

Se tomará una muestra de 500- 700 g de las partes aéreas secas y pulverizadas de la especie *Argemone Mexicana* "Cardo Santo" luego se procede a macerar con alcohol de 96°C por un periodo de 15 días en la cual se agitara periódicamente para optimizar la extracción de los metabolitos primarios y secundarios, luego se filtra y se procede a obtener un extracto seco mediante uso de un evaporador rotatorio o Rotavapor a una temperatura menos a 40°C.

Posteriormente se extraerá con HCl al 1% (2 x 50 mL), se filtrará y se obtendrán dos partes:

- ❖ **Insoluble:** Se lavará hasta un pH neutro con H2O destilada, posterior a ello se disolvió con Diclorometano (5ml), se elimina residuos de agua con sulfato de sodio anhidro, se filtra para constituir la **Fracción B.**
- ❖ **Solución ácida:** Se filtrará y alcalinizará utilizando amoniaco, se extrae con Diclorometano (2x50mL) obteniéndose fases como:

- **Fase Diclorometánica:** usando 10 mL de H_2O destilada se lava y luego se seca la fase Diclorometánica, con sulfato de sodio anhidro, se filtra obteniendo **la Fracción C.**

- **Fase Acuosa:** Saturamos usando 5g de sulfato de sodio anhidro y se extraerá con Diclorometano: etanol (3:2) (2x25mL). Obteniéndose fases como:

  - **Fase Orgánica:** (Diclometanica-etanólica). Se lavara con una solución de sulfato de sodio anhidro (10 mL) juntando las fases acuosas, con 1g de sulfato de sodio anhidro logramos deshidratar la fase orgánica, el filtrado nos da la **Fracción D**.

  - **Fase Acuosa:** Está constituida por residuos de la fase orgánica, constituyendo la **Fracción E**. Sobre estas fracciones se determinarán diferentes metabolitos.

Se obtienen las diferentes fracciones se realiza las reacciones de coloración o precipitación para la identificación de grupos funcionales y grupos de metabolitos presentes en el extracto etanólico de Argemone Mexicana "Cardo Santo"

2.4.2.4.2 Detección de Taninos

- **Reacción de gelatina-Sal:** se utiliza 3 tubos de ensayo, se adiciona 0.5 mL de extracto sobre 1 mL de NaCl 5% en el tubo N°1, al tubo N°2° se adiciona la solución de gelatina al 1%,el 1° y 2° tubo es indicativo para determinar la presencia de taninos, si ocurre en el tubo 1° el resultado sería un falso positivo.
- **Reacción de Cloruro Férrico:** Se colocan 0.5 mL de muestra "fracción A", más una gota de $FeCl_3$ 1%.los colores azul-negro, verde o azul verdoso son resultados positivos.

2.4.2.4.3 Detección de Flavonoides

- **Reacción de Shinoda:** en una placa se vierte 3 gotas de extracto de la fracción A, se agregar limaduras de Mg y 2 gotas de HCl concentrado.

La reacción nos dará positiva cuando aparecen tonos de color rojo, anaranjado y violeta.

2.4.2.4.4 Detección de Aminoácidos

- **Reacción de Ninhidrina:** La reacción se realiza sobre tiras de papel de filtro, utilizando una pipeta capilar se colocará:

a) Fracción A más reactivo de Ninhidrina al 2%.
b) Blanco: Sol. etanólica más Ninhidrina al 2%.

Las tiras secas de papel se colocan a 110°C hasta darnos un color blanco.
El color azul violáceo es positivo.

2.4.2.4.5 Detección de Alcaloides

Para ello se usan 4 tubos de ensayo y a cada uno se le debe colocar 4 mL de extracto y 1 mL de HCl 1% y luego se procederá a efectuar la reacción de precipitación:

- **Mayer**: Observar precipitado blanco.
- **Dragendorff:** Observar precipitado anaranjado.
- **Hager:** Observar precipitado amarillo.

2.4.2.4.6 Detección de Saponinas

- **Prueba de Espuma:** Se agitará 2.5 mL del extracto en por 60 segundos, reposar 15 minutos y divisar la formación de espuma. La altura de la espuma superara los 5 mm para ser positiva.

2.5. Procedimiento de Caracterización Fisicoquímicas

2.5.1 Sólidos totales: AOAC 925.03B

Determinación: Se pesó aproximadamente 2 g del extracto seco en una placa petri tratada en una estufa de 120°C – 140 ªC por 60 min., la cual se enfría en un desecador y pesa posteriormente. Destapada la placa se seca a 130 ± 3°C por 60 min. (Cuando la estufa alcanza la temperatura de los 130°C), cubrir la placa con su tapa, llevarla al desecador y pesar. La pérdida de peso se reporta como porcentaje de humedad.

2.5.2 Sólidos solubles: AOAC 932.12.

Los sólidos Solubles son determinados por el método refractométrico, en el cual se preparó una suspensión al 10% y luego de calibrar el equipo se colocó unas gotas de la suspensión y se realizó la medición directamente.

2.5.3 Cenizas: AOAC 923.03 Ash

Determinación: En un crisol previamente tratado a (550°C) y enfriado en un desecador se pone 3 g. de muestra, posterior la muestra se llevó a Incinerar en la mufla a 550°C hasta alcanzar ceniza blanca o ligeramente grises o hasta peso constante. Para enfriar La muestra se colocó en un desecador y posteriormente llevado a pesar, donde las cenizas totales es el residuo.

3.5.4 pH: AOAC 981.12 pH

Para la determinación del PH se hizo por el método electrométrico, en el cual se preparó una suspensión al 10% y seguidamente se calibro el equipo para la medición directamente.

- ✓ **Escrining Fitoquimico de la Especie Argemone mexicana "Cardo Santo"**

  Para la identificacion de los metabolitos secundarios se realizara el screening fitoquimico tomando una muestra de 20 g. aproximadamentede nuestro extracto etanolico seco de la especie vegetal Aegemone mexicana, para ello nos basaremos en los solventes de diferente polaridad. obtendremos 5 fracciones rotuladas alfabeticamente y sobre ellas se realizo las reacciones de precipitacion y decoloracion para la identificacion de los metabolitos secundarios y los grupos funcionales.

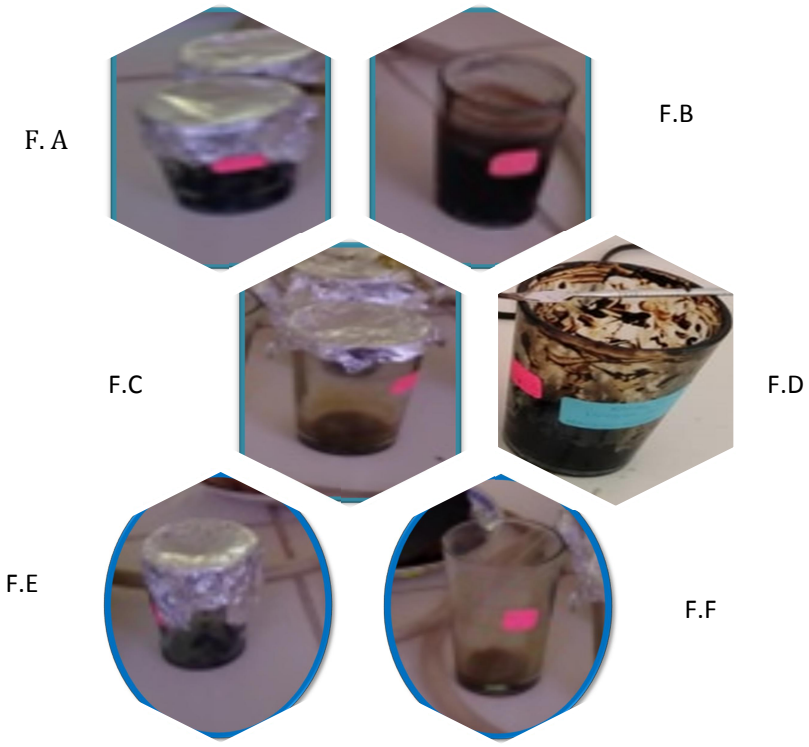


Figura 25. Facciones obtenidas por el screening fitoquimico.

Figura 26. Determinación de Cenizas de la Especie Argemone mexicana “Cardo Santo”

Figura 27 Determinación de Humedad de la Especie Argemone mexicana “Cardo Santo”

Figura 28. Determinación de PH del Extracto Etanolico de la Especie *Argemone mexicana* "Cardo Santo"

Figura 29 Determinacion de solidos soluble de la especie *Argemone Mexicana* "cardo santo"

2.6. Métodos Para Determinar la Actividad Antioxidante:

2.6.1 Determinación de actividad antioxidante por método DPPH: Método desarrollado por Brand-Williams et al., DPPH (2, 2 –difenil-1-picrilhidracilo) este método se utiliza para evaluar la actividad antioxidante tanto en alimentos, compuestos sintéticos y extractos vegetales. Se basa en la reducción del radical estable DPPH que inicialmente presenta coloración azul-violeta, tornándose hacia amarillo pálido por reacción con un compuesto antioxidante; la absorbancia es medida espectrofotométricamente a 515 nm.

Para el protocolo desarrollado se utilizaron 3.1 mg del radical DPPH y se diluyeron en 100 ml de metanol analítico al 80 % y mediante el espectrofotómetro se estableció la absorbancia entre 0.9 - 1.0 a una longitud de onda de 517 nm, luego se toma 2,9 ml y se adiciona 0,1 mL de las diferentes soluciones del extracto se incuba en oscuridad por 30 minutos y se vuelve a medir su absorbancia. El porcentaje de inhibición es determinado mediante la siguiente formula (35)

% inh = ((Abs de blanco - abs de la muestra)/ Abs de blanco) x 100

2.6.2 Determinación de actividad antioxidante por método FRAP: El proceso reduce el hierro férrico (Fe^{+3}) que está en el reactivo FRAP a su forma ferrosa (Fe^{+2}) por presencia de grupos antioxidantes.

Reactivo FRAP: Mezcla de las soluciones: buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 3,6), TPTZ (2,4, 6-tri (2-piridil)-s-triazina) y $FeCl_3$.

La coloración azul de proporcionalidad intensa a la capacidad reductora de la muestra (genera un complejo ferroso-TPTZ) este complejo se cuantifica por colorimetría a 593nm basado en el patrón. SE toma 3 mL del reactivo FRAP se mide su absorbancia y se adiciona 0.1 ml de las soluciones del extracto o del patrón se agita y se deja en reposo por 30 minutos luego se vuelve a medir su absorbancia

Los resultados se expresarán como valores TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), mediante la construcción de una curva patrón usando diferentes concentraciones del estándar Trolox. (36)

2.6.3 Determinación de actividad antioxidante por método ABTS: El método ABTS se fundamenta por una decoloración del radical ABTS+, debido a su acción reductora a ABTS, esto sucede por grupos antioxidantes. El radical ABTS+ es un cromóforo verde azulado que logra absorber en una longitud de onda de 734 nm generada por una reacción de oxidación del ABTS y el persulfato de potasio y se deja en reposo por un espacio de 16 horas antes de su uso. Luego se toma 1 ml y se diluye con buffer a una lectura de absorbancia entre 0,68 ± 0,02; se toma 2mL de esta solución y se adiciona 50 µl de las

diferentes diluciones del extracto o del patrón se deja incubando en la oscuridad por 30 minutos y luego se vuelve a medir su absorbancia, se toma en cuenta la absorbancia residual. Los resultados se expresarán como valores TEAC, mediante la construcción de una curva patrón usando como solución estándar el Trolox. (36)

Figura 30.Determinación de actividad antioxidante por método DPPH

Figura 31. Determinación de actividad antioxidante por método FRAP

Figura 32. Determinación de actividad antioxidante por método ABTS

2.7 Análisis e Interpretación de los Resultados

Cada resultado será registrado en una cuaderno de trabajo designado por el autor , así mismo se pondrá en uso el programa Excel Para la organización de tablas .así mismo se determinara el promedio mediante su desviación estándar así como las grafica de correlación.

2.8 Aspectos éticos.

En el presente trabajo los aspectos éticos están enmarcados en el ejercicio de la investigación científica en general y el constante uso del conocimiento, la razón y el respeto, lo cual demanda conductas éticas y morales en el investigador y el asesor. En el presente trabajo hay un acuerdo general para evitar conductas no éticas desde su inicio del trabajo hasta su culminación, el presente acuerdo abarca en la práctica y en el desarrollo del trabajo en sí, entre el asesorado y el asesor, con base en el principio de "Responsabilidad, respeto y humanidad por hacer las cosas bien para un mejor mañana". De igual manera el equipo de investigación de la presente tesis declara no tener conflicto de interés de ninguna índole.

III. RESULTADOS

- ✓ **Tabla 2. Caracterización físico química del extracto etanolico de la especie** *Argemone mexicana* **"Cardo Santo"**

Parámetros	Resultados	Unidades
Humedad	10,82	g/100g
Solidos Totales	89,18	g/100g
Solidos solubles	4,7	° Brix
Cenizas	5,18	g/100g
pH	3,98	..
Color	Verde oscuro	--
Olor	Suigéneris	--
Consistencia	Denso	--

Tabla 3. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanolico de la especie Argemone mexicana "Cardo Santo"

Fracciones	Reacciones	Metabolitos	Resultados
A	Nihindrina	Aminoácidos libres	+
	Rx. Gelatina	Taninos	-
	Rx. Cloruro Férrico		+
	Shinoda	Flavonoides	+
B	Rx Liebermann Burchard	Triterpenos/esteroides	+
	Rx Borntrager	antraquinonas	-
	Rx Shinoda	Flavonoides	+
C	Rx Kedde	Lactonas sesquiterpénicas	-
	RX Liebermann Burchard	Triterpenos/esteroides	+
	Rx Wagner	Alcaloides	+
	Rx Mayer		+
	Rx Drangedorff		+
D	Rx Drangedorff	Alcaloides	+
	Rx Wagner		+
	Rx Mayer		+
	Rx,Rosenheim	Leucoantocianidinas	+
	Rx Shinoda	Flavonoides	+
	Rx Liebermann Burchard	Triterpenos/esteroides	+
E	Rx Shinoda	Flavonoides	+
	Rx Rosenhein	Catequinas	+

\+ Presencia

\- ausencia

Tabla 4. Valores de las concentraciones de soluciones del extracto para la determinación de Porcentaje de inhibición del radical DPPH

CC de extracto (mg/mL)	Absorbancia de repetición 1	Absorbancia de repetición 2	Absorbancia promedio	Porcentaje de inhibición
0,21	0,931	0,927	0,924	3,85
0,42	0,884	0,911	0,892	7,18
0.84	0,848	0,836	0,842	12,38
1,67	0.737	0,715	0,726	24,45
3,35	0,470	0,460	0,465	51,61
6,69	0,282	0,294	0,288	66.13
blanco	0,961			

En rojo datos fuera de curva

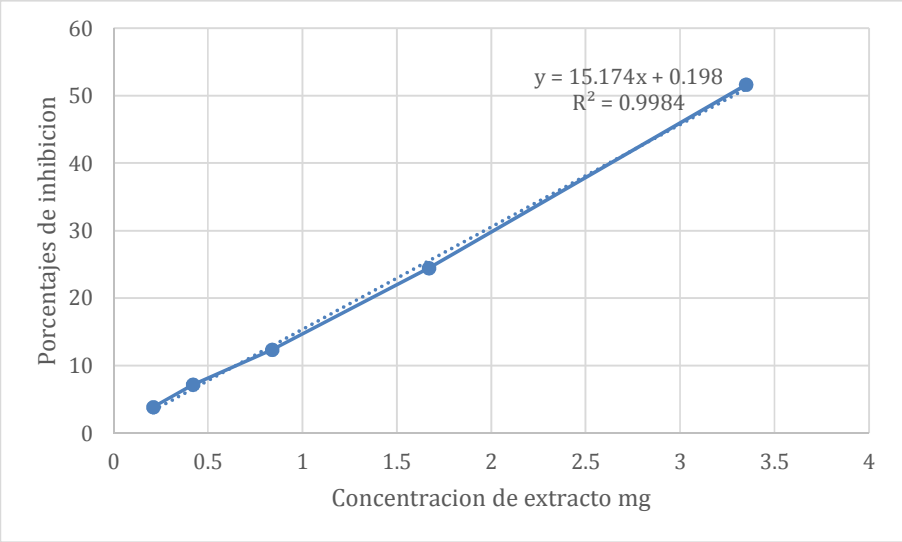


Figura 33. Curva de correlación entre concentración del extracto y porcentajes de inhibición del radical DPPH

Por lo Tanto IC50 = 3,28 mg

Tabla 5. Valores de las concentraciones estándares de trolox para la determinación de actividad antioxidante por FRAP

Concentración de trolox (mM)	Absorbancia repetición 1	Absorbancia repetición 2	Absorbancia repetición 3	Promedio de absorbancia
0,0312	0,143	0,135	0,133	0,137
0,0625	0,189	0,192	0,187	0,189
0,125	0,302	0,314	0,300	0,306
0,25	0,489	0,481	0,470	0,480
0,5	0,816	0,839	0,829	0,828
1	1,548	1,490	1,492	1,510

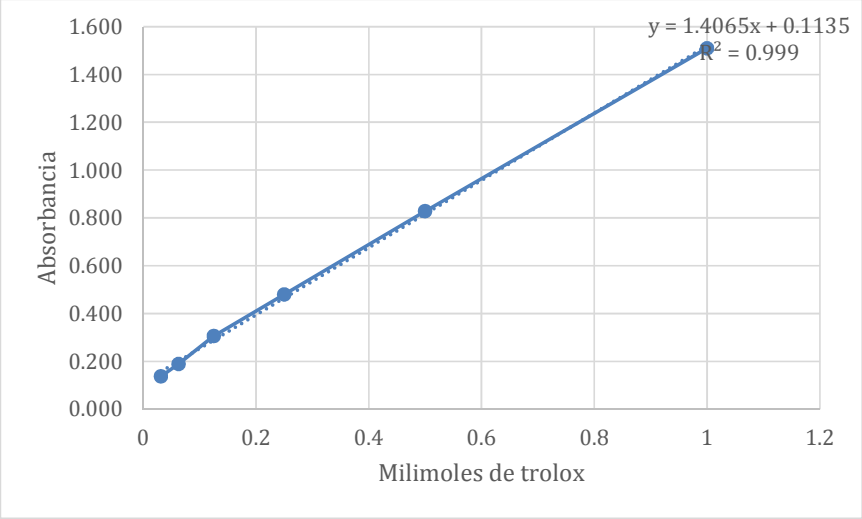


Figura 34. Curva de calibración de trolox según método FRAP

Tabla 6. Lecturas de soluciones de extracto de la especie para la determinación de TEAC por el método FRAP

Concentración de extracto mg/mL	Absorbancia de repetición 1	Absorbancia de repetición 2	Promedio de absorbancia 3	Equivalente de Trolox mM
0,18	0,151	0,167	0,139	0,032
0,36	0,291	0,279	0,285	0,122
0,73	0,471	0,477	0,474	0,256
1,45	0,902	0,872	0,887	0,550
2,91	1,459	1,537	1,493	0,981
5,82	2,590	2,524	2,562	1,741

Nota: La concentración de 5,81mg/mL del extracto esta fuera del rango de calibración.

Los equivalentes de trolox resultan de aplicar la absorbancia residual en la ecuación de la curva de calibración

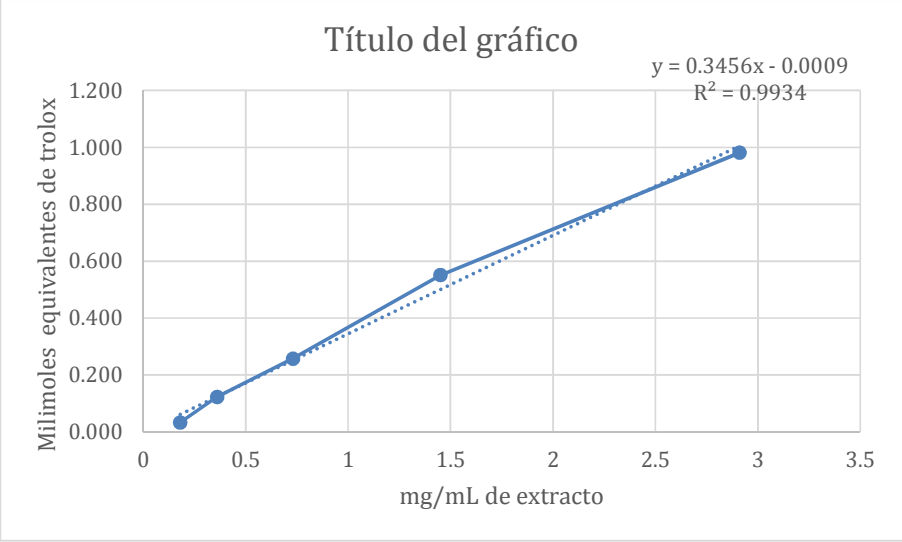


Figura 35. Curva de correlación entre concentración de extracto y equivalentes de trolox

Por lo tanto: 1 mg ⟷ 0,345 mM de trolox

Tabla 7. Valores de las concentraciones estándares de trolox para la determinación de actividad antioxidante por ABTS

Concentración de trolox (mM)	Absorbancia de repetición 1	Absorbancia de repetición 2	Absorbancia promedio	Absorbancia Diferencial
0,0312	0,590	0,602	0,596	0,084
0,0625	0,569	0,549	0,559	0,123
0,125	0,491	0,495	0,493	0,189
0,25	0,351	0,373	0,362	0,320
0,5	0,181	0,175	0,178	0,504
Blanco	0,682			

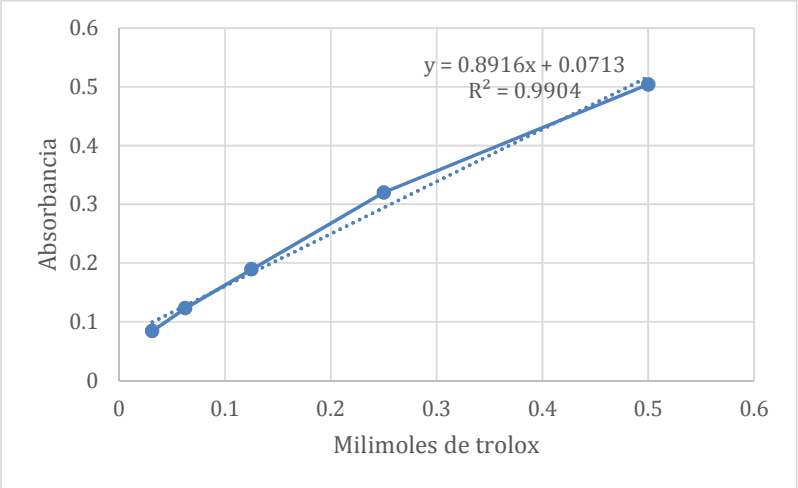


Figura 36. Curva de calibración de trolox según el método del radical ABTS

Tabla 8. Lecturas de soluciones de extracto de la especie para la determinación de TEAC por el método ABTS

CC de extracto mg/mL	Absorbancia de repetición 1	Absorbancia de repetición 2	Absorbancia diferencial de promedio	Equivalente de Trolox mM
0,36	0,536	0,519	0,154	0,082
0,73	0,428	0,408	0,264	O,216
1,45	0,258	0,261	0,423	0,394
2,91	0,116	0,124	0,662	O,663
5,81	0,020	0,026	---	---
Blanco	0,682			

Nota: La concentración de 5,81mg/mL del extracto esta fuera del rango de calibración.

Los equivalentes de trolox resultan de aplicar la absorbancia residual en la ecuación de la curva de calibración

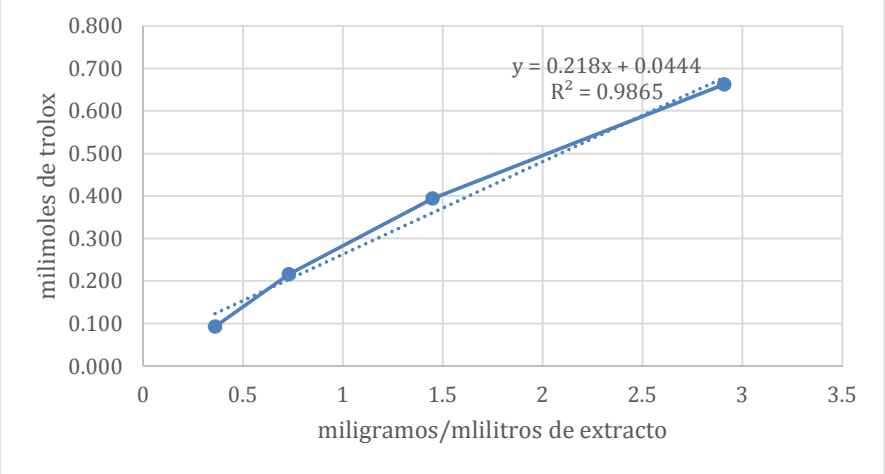


Figura 37. Curva de correlación de concentración del extracto vs equivalentes de trolox expresados en milimoles

Por lo tanto: 1 mg ⟷ 0,262 mM de trolox

IV. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

En el presente estudio tuvo como objetivo general "Determinar la caracterización fisicoquímica y determinación de la actividad antioxidante de extracto etanolico de la especie ***Argemone mexicana "cardo santo"*** procedente del distrito de churcampa, Provincia Churcampa, Departamento de Huancavelica", considerando diversos aspectos y el uso tradicional que desde tiempos remotos y hasta la actualidad, los pobladores de dicha zona la siguen utilizando para aliviar muchos malestares de su salud; desconociendo la existencias de estudios que respalden su real valor farmacológico; con nuestra investigacion pretendemos contribuir a conocer la características fisicoquímica así como sus metabolitos secundarios presentes en el extracto etanolico de esta especie; teniendo en cuenta que estos metabolitos pueden variar de acuerdo a una serie de factores agronómicos y medio ambientales, y por ende también sus propiedades atribuidas. En toda la literatura previa revisada solo se encontró un estudio perteneciente al departamento de Ayacucho que presenta condiciones ambientales similares al lugar de procedencia de nuestra especie vegetal (37).

Al iniciar se realizó un análisis de las características físicas propias de la especie como la forma, color y olor de todas las partes aéreas las cuales mostraron coincidencias con la descripción botánica. Así mismo, luego se secar y moler las partes aéreas se colocaron un frasco de vidrio de boca ancha y se adiciono alcohol de 96° dejando macerar por un espacio de 15 días con agitación entre días, el extracto fluido se filtró y concentro en un evaporador rotatorio a presión reducida y una temperatura menor a 40 °C. A este extracto se le realizó una caracterización fisicoquímica con el objeto de establecer los parámetros de estandarización de extracto para utilizaciones futuras; cómo podemos observar que en la tabla N°2 se determinaron la humedad, cenizas pH entre las características sensoriales de color, olor y consistencia, valores estos no reportados en otros estudios de extractos de vegetales a los que se atribuyen propiedades terapéuticas. En la tabla N°3 se presentan los resultados de las determinación cualitativa de los compuestos bioactivos presente en el extracto etanolico de la planta entera de *Argemone mexicana*, los cuales se determinaron mediante las reacciones de coloración y/o precipitación empleadas en los estudios fitoquímicos según la marcha analítica de Lock 2017, teniendo como resultado los principales compuestos hallados Grupos fenólicos libres, flavonoides, terpenos y alcaloides, aminoácidos libres concordando que los datos hallados por los diversos autores mencionados en los antecedentes antes citados; lo que hay que recalcar es que en la mayoría de las fracciones de extracto se evidencio la presencia de grupos de compuestos que se les relacionan con la propiedad antioxidante determinada.

En lo referente a la actividad antioxidante podemos observar en la tabla 3 y figura 39, el resultado de dicha actividad por el método de DPPH, en la cual luego de determinar los porcentajes de inhibición de las diversas soluciones de distintas concentraciones nos permitió determinar el correspondiente IC_{50} que nos dio un valor de 3,28mg, este valor se puede considerar un valor pobre o de baja actividad comparada con lo reportado por Cieza 2019,; sin embargo se debe tener en cuenta que este autor trabajo con extracto hidroalcohólico y con las diversas partes por separados como son las hojas, tallos y raíces de la especie fue Argemone subfusiformis (también denominada cardo santo); Diaz 2016 realizo la actividad antioxidante por el mismo método de DPPH del extracto hidroalcohólico del látex de la misma especie que nuestro estudio encontrando valores muy superiores de actividad antioxidante. En la tabla 4 y figura 40 se puede apreciar los valores del patrón de trolox por el método de FRAP lo que luego nos permite hallar la actividad antioxidante del extracto Tabla 5 figura 40, por este método el cual reporta un TEAC (actividad antioxidante equivalente de trolox) expresado en milimoles como que 1mg de extracto equivale a 0,347 mm. de trolox, este valor no se pudo comparar ya que en toda la literatura revisada no se encontró la determinación de dicha actividad por este método; sin embargo comparada con otros estudios se pueden considerar apreciable, y debemos tener en cuenta que este método está basado en el mecanismo de transferencia de electrones simples.

En cuanto a los resultados de la capacidad antioxidante por el método ABTS podemos apreciar en la tabla 5 y figura 41 los valores de la disoluciones del patrón utilizado (trolox), lo que luego permite obtener el correspondiente TEAC que como se puede apreciar en la tabla 7 y figura 41, consiste un valor equivalente de 0,262 milimoles equivalente a un 1mg de extracto, como podemos apreciar este método es presenta valor menor, pese a que algunos autores este método presenta en su accionar ambos mecanismo por los cuales se determina la capacidad antioxidante de un compuesto como son: la transferencia de átomos de hidrógenos (HAT) y la transferencia de electrones simples .

Durante el estudio debemos destacar los antecedentes y estudios encontrados frente a los cuales se han comparado y tomado como referencia los resultados del presente estudio. De los resultados podemos deducir que la especie Argemone mexicana “cardo santo” del distrito churcampa, provincia churcampa, departamento Huancavelica presenta características considerables que se deben tener muy en cuenta, así como su composición química y contenido de metabolitos que respaldarían el valor terapéutico atribuido como el alivio de algunas dolencias relacionadas a la presencia o generación de radicales libres los cuales podrían neutralizarse con la capacidad antioxidante reportada en el presente estudio.

V. CONCLUSIONES:

Culminado el presente trabajo y los objetivos propuestos podemos llegar a la conclusión:

1. La composición química de la especie *Argemone mexicana* "cardo santo" destaca la presencia de varios metabolitos secundarios con una buena proporción de alcaloides. La caracterización fisicoquímica para el extracto de hojas, tallo y raíz de Argemone mexicana "Cardo santo" fue de 10,82 g/100g de humedad, 89,18 para solidos totales, 4,7 Brix sólidos solubles, 5,18 g/100g para cenizas.

2. Los principales compuestos bioactivos presentes en la planta *Argemone mexicana* son: grupos fenólicos libres, flavonoides y triterpenos y alcaloides principalmente. En el screening fitoquímico se obtuvo que la mayoría de las fracciones nos dieron positivo a la detección de flavonoides que guarda una relación muy importante con la actividad antioxidante, cabe resaltar que también resulto positivo a demás metabolitos secundarios como los alcaloides, triterpenoides, taninos y aminoácidos libres.

3. El extracto etanolico de hojas, tallo y raíz de *Argemone mexicana* "Cardo santo", evaluados por el método DPPH presento actividad antioxidante expresada como IC50 de 3,28mg. En la determinación de TEAC por el método de FRAP se puede expresar como que 1mg de extracto equivale a 0,345 mM de trolox y para el caso del método del radical ABTS la determinación de TEAC es que 1mg de extracto equivale 0,262 mM de trolox. Por lo tanto se concluye que la mayor capacidad antioxidante se da por el método DPPH.

VI. RECOMENDACIONES

- Continuar con el estudio fitoquímico, antioxidante, analgésico y toxicidad de la especie Argemone mexicana "cardo santo" por la presencia de numerosos metabolitos que resultaron positivos a su identificación y caracterización química con actividades biológicas y así potenciar el conocimiento sobre esta especie.
- Utilizar estándares para la identificación y cuantificación de metabolitos secundarios presentes en la especie *Argemone mexicana* "cardo santo", con el fin de realizar mayores estudios a los extractos y contribuir en la búsqueda de nuevos tratamientos farmacológicos en comparación directa con las investigaciones de trabajos encontrados.
- Estudiar la fracción Alcaloidal de la especie *Argemone mexicana* ya que es un metabolito de suma importancia encontrada en la planta en forma de látex amarillento; así mismo, se debe evaluar su actividad analgésica y toxicidad.
- Realizar estudios de estabilidad de la capacidad antioxidante, puesto que es una planta herbácea que se presenta en mayor proporción en épocas de lluvia.

VII. Referencias bibliográficas

1. Padilla C.F, Rincón M.A, Bou-Rached L. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. ALAN 2008; 58(3).

2. Rubio Piña JA, Estudios moleculares sobre la síntesis de alcaloides bencilisoquinolinicos de Argemone mexicana [Tesis Doctoral] [mexico]; Posgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas; 2008 [citado el 2008]. Recuperado a partir de: file:///C:/Users/htht/Downloads/PCBP_D_Tesis_2008_Jorge_Rubio_Pina.pdf**.**

3. Ranjana P, Anjana G, Medicinal Property and Ethnopharmacological Activities of Argemone mexicana: An Overview. 2021; vol.25 N°3 pp.1615-1641.

4. Alejandra Torrija T, Arturo Huerta-De la P; Agustín Aragón G. Evaluación de dos extractos vegetales y el colorante phloxine-b, para la captura de la mosca del nogal de castilla, en puebla, méxico. Universidad Autónoma Indígena de México. Ra Ximhai, 2014; vol. 10, núm. 6, pp. 9-22.

5. Felipe Vázquez F, Jorge Rubio P y Jorge Xool T. Distribución tisular de transcritos involucrados en la biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolinicos en plantas maduras de *Argemone mexicana L*. (Papaveraceae). Centro de Investigación Científica de Yucatán, México (2017). Recuperado a partir de: https://www.redalyc.org/journal/610/61054744002/.

6. Diana A. C, Karla A. F, COMPORTAMIENTO POBLACIONAL DE MOSCA BLANCA (Bemisia tabaci) Y TRIPS (Frankliniella occidentalis Pergande) CON EL USO DE CINCO EXTRACTOS DE PLANTAS NATIVAS DEL VALLE DE TOLUCA EN Physalis ixocarpa. (Tesis Colectiva Mexico) (2018) UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS. Recuperado a partir de: http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/94877/AGUILAR%20DIANA%20Y%20ALMENDAREZ%20KARLA%20TESIS%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y

7. Lloyd JA L. José I. Laines H; Miriam Monforte G; Felipe Vázquez F. Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán México. febrero 2022. Vol. 65 N°04.

8. Carlos A. M. G. Riesgos de la herbolaria: reporte de un caso de hepatitis por cardo santo (Argemone mexicana L) Agosto 2013. Recuperado a partir de: https://www.medwave.cl/investigacion/casos/5763.html.

9. Fabián F. H. Evaluación Biosida de extracto de semillas de las Plantas Argemone mexicana y Argemone platyceras, contra el vector Transmisor del Dengue: Aedes Aegypti. Tesis para Obtener el grado de: MAESTRIA EN TECNOLOGIA AVANZADA. Mexico (julio del 2013). Recuperado a partir de: https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/16523/TESIS%20FABIAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

10. MOTILAL, B.S; PATHAN, Inayat B. Evaluación de la actividad diurética y laxante del extracto acuoso de hojas de *Argemone mexicana* en ratas. *Ars Pharm* [online]. 2017, vol.58, n.2, pp.53-58. ISSN 2340-9894.

11. Aymé Fernández C. V; Judith M.M; Ramón S. L; Luis M. D; Ramón L. D; Dianeya M. Ll; Armando C. C; Actividad antiplasmodial de lactonas de Parthenium hysterophorus L. y alcaloides de Argemone mexicana L. en Cuba Anti-plasmodial activity of Parthenium hysterophorus L. lactones and Argemone mexicana L. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). La Habana, Cuba. II Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana.

12. Goutam Brahmachari, Dilip gorai, Rajiv Roy, Argemone mexicana: chemical and pharmacological aspects. 2013; 23(3): 559-575.

13. Héctor Marlon CH. T, Ronald Griego C. M. Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de Senecio canescens (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. “vira-vira” Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Lima (2017). recuperado a partir de: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877261/efecto-antiinflamatorio-analgesico-y-antioxidante-del-extracto-_rZ20UGB.pdf.

14. Diaz Martinez LH, Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del látex de Argemone mexicana (“Cardo santo”) [tesis para título profesional en internet]. [Lima] UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS; 2016 [citado el 15 de diciembre del 2018] recuperado a partir de: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/5069/Diaz_mh.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

15. Cieza Heredia M del R, castillo laborío EM, actividad antioxidante y citotóxica de los extractos hidroalcohólicos de hojas, tallo y raíz de argemone subfusiformis g.b. Ownbey “cardo santo” [tesis para título profesional en internet]. [Lima] universidad nacional mayor de san marcos; 2019 [citado 5 noviembre de 2019]. Recuperado a partir de: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/11223/cieza_hm.pdf?sequence=1&isallowed=y.

16. Laines Hidalgo JI, Análisis de la Síntesis de Alcaloides en Fruto y Semilla de Argemone Mexicana L. [tesis para maestría en internet]. [Mexico] Centro de Investigacion Científica de Yucatan, A.C. 2019 [citado el 11 de Abril del 2019]. Recuperado a partir de: https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1507/1/PCB_M_Tesis_2019_Jose_Ignacio_Laines_Hidalgo.pdf

17. Department of Agriculture and Food. Mexican poppy (Argemone mexicana and Argemone ochroleuca). Declared plant in Western Australia.2012. 5 pp.

18. María del Rosario S.P FITOTERAPIA Y LACTANCIA MATERNA. Universidad de Jaen . Facultad de ciencias de la Salud. Mayo (2017) Recuperado a partir de: https://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/6215/1/Soto_Prez_TFG.pdf.

19. Radical libre. Instituto Nacional del Cancer- de los institutos Nacionales de la Salud de EE.UU. 2019. Recuperado a partir de: https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/radical-libre.

20. Dra. Sara Pura T. Q, Dr. Armando B. V, Lic. Marta V. A, Dra. Odalys A. L RADICALES LIBRES Y DEFENSAS ANTIOXIDANTES. FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS GUANTANAMO. Recuperado a partir de:

file:///C:/Users/htht/Downloads/Dialnet- radicalesLibresYDefensasAntioxidantes-6143751.pdf.

21. Vélez-Terranova M, Campos Gaona R, Sánchez-Guerrero H, USO DE metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal : Universidad Autónoma de Yucatán; 2014 [citado 16 diciembre 2014]. Recuperado a partir de: https://www.redalyc.org/pdf/939/93935728004.pdf

22. Adolfo Á. G, Elena P-U C, Metabolismo secundario de plantas. Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal). Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2009, 2 (3): 119-145, ISSN: 1989-3620.

23. Marta Coronado H. Salvador Vega y León Rey Gutiérrez T. Marcela Vázquez F. Claudia Radilla V, Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr 2015 Vol. 42, Nº2

24. Plantas Acuario.es. Vitamina C (Ácido Ascorbico), usos y beneficios en el acuario. recuperado a partir de: https://plantasacuario.es/blog/11_acido-ascorbico-vitamina-c

25. Cornelli U. Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology* Volume 27, Issue 2, March-April 2009, Pages 217-224. Recuperado a partir de: https://www.iqb.es/monografia/fichas/ficha107.htm.

26. Annia G. Estrés oxidativo, radicales libres, antioxidantes y… ¿Química Computacional? Boletín de la Sociedad Química de México. Recuperado a partir de http://bsqm.org.mx/pdf-boletines/V11/V11N3/BSMQ_11_3_kEstresOxidativo.pdf.

27. Marta C. H. Salvador V, León Rey G. T. Marcela V. F. Claudia R. V. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, México. Junio 2015 Rev Chil Nutr Vol. 42, Nº2. Recuperado a partir de: https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf

28. Sepúlveda Jiménez G, Porta Ducoing H y Rocha Sosa M, La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. Revista Mexicana de Fitopatología. 20003 vol. 21, N° 3 pp. 355-363.

29. Cely Veloza Willy F, Matulevich Javier A, Castrillón William F. TRITERPENOS Y ESTEROLES DE Salvia leucantha (LAMIACEAE) Y EVALUACIÓN DE SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE [trabajo en internet] [Colombia]: UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA; 2014 [citado 30 de Mayo de 2014]. Recuperado a partir de: file:///C:/Users/htht/Downloads/340-Texto%20del%20art%C3%ADculo-850-1-10-20141218.pdf.

30. Arturo C. F. Biotransformación de triterpenos con diferentes microorganismos Rev. mexicana. cienc. farm Junio 2013 vol.44 no.2. SSN 1870-0195. Recuperado a partir de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000200002.

31. Escamilla Jiménez CI, Cuevas Martínez EY, Guevara Fonseca J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes [Monografía en internet] [Mexico]: Facultad de Medicina, UNAM; 2009 [Citado Marzo-abril 2009]. Recuperado a partir de: http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no52-2/RFM052000207.pdf.

32. Susana M. F, Javier G. G, Jesus C ,José T. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutricion hospitalaria: organo oficial de la Sociedad Espanola de Nutricion Parenteral y Enteral.enero 2022,17(06) . Recuperado a partir de: https://www.researchgate.net/publication/237359143_Los_flavonoides_propiedades_y_acciones_antioxidantes.

33. Sánchez-Valle V, Méndez-Sánchez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Departamento de Investigación Biomédica, Fundación Clínica Médica Sur. Julio-Septiembre 2013; 20 (3): 161-168.

34. Marta O. Los alcaloides de origen vegetal y su uso en alimentación animal. Marzo del 2019. Recuperado a partir de: https://www.andersensa.com/wp-content/uploads/2019/04/0219_ANDERSEN-Alcaloides-1.pdf

35. Polanco CI, Pérez de león VH, caracterización de las especies botánicas, utilizadas popularmente como cardo mariano en Guatemala [tesis en internet] [Guatemala]: universidad de san Carlos de Guatemala; 2012 [citado agosto de 2012]. Recuperado a partir de: https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/tesis/qb1033.pdf

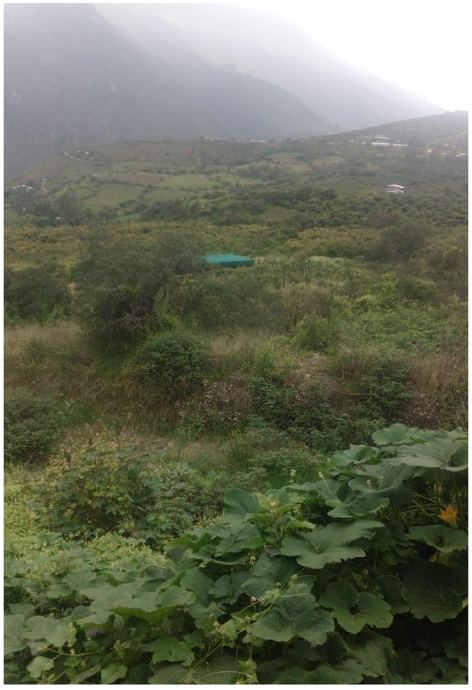
36. Lock de Ugaz O. "Investigación Fitoquimica, Métodos en el estudio de productos Naturales". Segunda ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.

37. Guija Poma E, Inocente Camones M.A, Ponce Pardo J, Zarzosa Norabuena E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. Horiz Med 2015; 15(1) pp 57-60.

38. Rioja Antezana A, Vizaluque B.E, Aliga Rossel E, Tejeda L,Book o, Mollinedo P. Mauricio Peñarrieta J, Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de chenopodium quinoa. Revista Boliviana de Química, 2018 vol. 35, núm. 5, pp. 168-176.

39. Miranda Tomasevich T, Montes Enciso M, Efecto genotoxico in vitro del látex de plantas medicinales de uso dérmico Argemone mexicana L. “cardo santo” y Taraxacum officinale” diente de león” tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico. UNIVERSIDAD NACIONAL SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA. Ayacucho 2017.

VIII. Anexos.



Terrenos con nuestra especie vegetal *Argemone mexicana*

Obtención del macerado de la especie vegetal *Argemone mexicana*

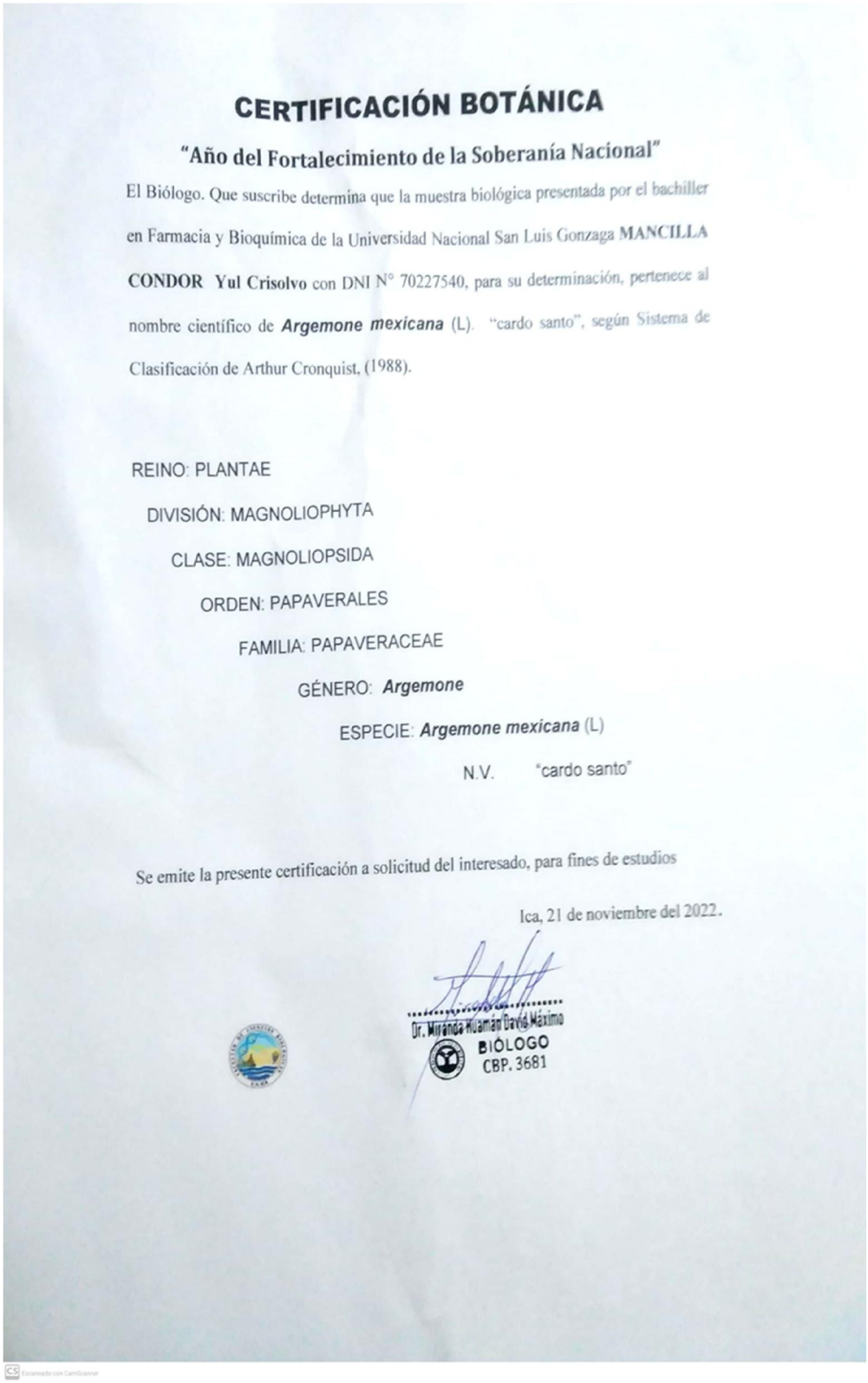
Filtrado del extracto etanolico

Determinación de metabolitos secundarios

Pruebas para la actividad antioxidante

Lecturas de Absorbancia de las pruebas a concentraciones distintas.

Certificación Botánica



CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

El Biólogo. Que suscribe determina que la muestra biológica presentada por el bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga **MANCILLA CONDOR Yul Crisolvo** con DNI N° 70227540, para su determinación, pertenece al nombre científico de ***Argemone mexicana*** (L). "cardo santo", según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: PAPAVERALES

FAMILIA: PAPAVERACEAE

GÉNERO: ***Argemone***

ESPECIE: ***Argemone mexicana*** (L)

N.V. "cardo santo"

Se emite la presente certificación a solicitud del interesado, para fines de estudios

Ica, 21 de noviembre del 2022.

Dr. Miranda Huamán David Máximo
BIÓLOGO
CBP. 3681

Escaneado con CamScanner

UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

CONSTANCIA

LA DIRECTORA ACADÉMICA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA.

HACEN CONSTAR QUE EL ESTUDIANTE:

MANCILLA CONDOR, YUL CRISOLVO

Código Nº 20152020

En vías de regularización, se le autoriza el uso de las instalaciones del laboratorio de Análisis Instrumental, para el desarrollo de su proyecto de tesis, el cual lleva como título **"Actividad Antioxidante del Extracto Etanòlico de la especie Argemone Mexicana "cardo santo"**, y que aprobado el proyecto deberá presentar un documento con su asesor, indicando los días y horas que hará uso del laboratorio.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Ica, 08 de marzo 2023

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
Dra. Francisca M. García Wong
DIRECTORA DE ESCUELA PROFESIONAL

Escaneado con CamScanner