

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PARTES AÉREAS DE *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd.

Roberto Cresencio Garayar Flores ⁽¹⁾; Haydeé Chávez Orellana ⁽²⁾

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo

Recibido: 30/12/2016
Aprobado: 31/01/2017

Autor correspondiente

Roberto Cresencio Garayar Flores
garayarf@gmail.com
956-814-646

Financiamiento

Autofinanciado

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Citar como

Garayar Flores RC, Chávez Orellana H. Actividad antioxidante del extracto etanólico de partes aéreas de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd. Revista Peruana de Medicina Integrativa.2016;1(4):31-7.

RESUMEN

Objetivo. Determinar la actividad antioxidante en partes aéreas (hojas, tallos y flores) de la especie *Loricaria ferruginea* Ruiz & Pav. Wedd. **Materiales y métodos.** El material vegetal fue recolectado en la quebrada de Llaca, provincia de Huaraz, región Ancash. Los extractos se obtuvieron utilizando el método de extracción sólido - líquido Soxhlet con etanol. El extracto etanólico fue fraccionado utilizando solventes de polaridad creciente. Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó el método de neutralización del radical libre difenildipicrilhidracil (DPPH). Se determinó la concentración efectiva media (CE50) en la fracción de mayor actividad. Asimismo, se realizó el tamizaje fitoquímico preliminar, para determinar los tipos de metabolitos secundarios presentes en la planta. En el extracto etanólico total y sus fracciones, también se realizó un análisis fitoquímico preliminar con el mismo objetivo. **Resultados.** La fracción de acetato de etilo tuvo mayor actividad antioxidante 19,25% (10 µg/mL) y 73,47 % (50 µg/mL), con una CE50 de 28,37 µg/mL. El tamizaje fitoquímico de la especie vegetal indicó la presencia de flavonoides, triterpenos y catequinas. El análisis fitoquímico preliminar en la fracción acetato de etilo detectó la presencia de flavonoides y catequinas. **Conclusión.** La fracción de acetato de etilo tuvo mayor actividad antioxidante, pero inferior a la sustancia patrón (rutina), pudiendo los flavonoides y catequinas estar relacionados con la actividad antioxidante.

Palabras clave: Plantas medicinales, Asteraceae, Antioxidantes, Flavonoides, Radicales libres (Fuente: DeCS).

ANTIOXIDANT EFFECT OF *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd. AERIAL PARTS ETHANOLIC EXTRACT

ABSTRACT

Objective. Determine antioxidant activity in aerial parts (leaves, stems and flowers) from *Loricaria ferruginea* Ruiz & Pav. Wedd. **Material and Methods.** The plant was collected in the zone of Llaca, Province of Huaraz, Region Ancash. For obtain the extracts was used the solid-liquid Soxhlet's extraction with ethanol, the ethanolic extract was fractioned using growing polarity solvents. For the determination of antioxidant activity was employed the method of free radical scavengers DPPH (Diphenyl-picril-hidrazil). The medium effective concentration (EC₅₀) was realized in the extract and or fraction of mayor activity. Although was carried out a phytochemical screening to determine the type of secondary metabolites presents in the vegetal specimen. In the fraction of mayor activity was realized a preliminary phytochemical analysis too. **Results.** The fraction of ethyl acetate had the mayor antioxidant activity 19,25% (10 ug/ml) and 73,47% (50 ug/ml) with EC50 (28,37 ug/ml). The metabolites found in the phytochemical screening were triterpens, flavonoids and catechins. In the fraction of ethyl acetate detected flavonoids and catechins. **Conclusion.** The fraction of ethyl acetate had the mayor antioxidant activity, but less the standard Rutine. The metabolite associated to the antioxidant activity appear the flavonoids and catechins.

Key words: Plants, medicinal; Asteraceae, Antioxidants, Flavonoids, Free radicals. (Source: DeCS).

INTRODUCCIÓN

La oxidación es definida como un proceso bioquímico de pérdida de electrones asociado a otro proceso de captación que se denomina reducción. Así, este proceso participa en los procesos de obtención de la energía celular ⁽¹⁾. Como resultado de estos procesos de

metabolismo celular, se originan moléculas denominadas radicales libres, las cuales, a su vez, pueden ser especies reactivas de oxígeno (ROS) o especies reactivas de nitrógeno (RNS) ^(2,3). Estos compuestos se encuentran en un equilibrio dinámico interactuando con otras moléculas que actúan como compuestos antioxidantes; la desregulación de este equilibrio, favoreciendo a la

¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica

² Laboratorio de Química Orgánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica

producción de radicales libres, se define como estrés oxidativo ^(4,5).

Esta situación está asociada a daño en la estructura y función de moléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, por ende, en los últimos años se ha investigado su función en el origen de muchas enfermedades que tengan un trasfondo inflamatorio (p.e. artritis, vasculitis, lupus eritematoso sistémico, rechazos en trasplantes de órganos, etc.); isquémico (enfermedades coronarias, *stroke*, etc.); hipertensión, desórdenes neurológicos (enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson), entre otras ^(3,6).

En este contexto, se ha intentado buscar estrategias que prevengan o, al menos, disminuyan el daño causado por los radicales libres. Una de estas ha sido la búsqueda de actividad antioxidante en plantas medicinales, sobre todo en un ecosistema tan diverso como el peruano ⁽⁷⁾. Existen algunos reportes que han determinado actividad antioxidante en otras plantas peruanas como *Geissospermum reticulatum* ⁽⁸⁾, *Chenopodium quinoa* Willd ⁽⁹⁾, *Uncaria tomentosa* (Willd. Ex Roem. & Schult) ⁽¹⁰⁾, entre otras.

De Feo *et al.* ⁽¹¹⁾ reportan en un estudio etnobotánico de plantas medicinales en la sierra del departamento de Piura, 46 especies vegetales con uso medicinal. Entre dichas especies figuran especies del género *Loricaria*, las cuales poseen propiedades antipiréticas y antiespasmódicas. Bussmann reporta su uso en el norte del Perú en forma tópica para casos de presión sanguínea e irregularidades menstruales ⁽¹²⁾. Asimismo, La planta entera es usada en forma de cocimiento “para cambiar el carácter de las personas y para hacerlas más fuertes” ⁽¹³⁾. De la misma forma, es usada como antihemorrágica ⁽¹³⁾. *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd. es una especie que crece entre los 3000 a los 4500 m de altitud y se encuentra en los departamentos de Ancash, Cajamarca, Junín, Lambayeque, La Libertad, Moquegua, y Pasco ^(14,15). Es conocida comúnmente como parja-parja, matará, palmilla, o pata de gallina ⁽¹³⁾. Con respecto a esta especie, se han encontrado solo un estudio previo sobre su caracterización química. Malca García *et al.* ⁽¹⁶⁾ determinaron que el extracto hexano de esta especie contenía 5,7-dimetoxicumarina; 5,7,8-trimetoxicumarina; 5-hidroxiobliquina y 5-metoxiobliquina, los cuales han sido reportados como potentes inhibidores de la expresión de NOS. Por otro lado, Bussman, en un estudio de toxicidad en extractos de plantas medicinales del norte peruano mediante el método de letalidad del camarón de mar, el extracto etanólico de la misma especie mostró una concentración letal media de 15 µg/mL, por lo que fue considerado bioactivo para futuras investigaciones de actividad biológica ⁽⁷⁾. Asimismo, Bussman *et al.*, en un estudio de actividad antibacteriana de plantas medicinales del norte peruano, encontraron que el extracto etanólico de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd. fue activo

frente a *Staphylococcus aureus* mediante el método de difusión en agar ⁽¹⁷⁾.

Basados en el uso popular de la planta y teniendo en cuenta que la tribu taxonómica a la cual pertenece presenta una alta incidencia de flavonoides, metabolitos de conocida propiedad antioxidante ⁽¹⁸⁾, es que el presente trabajo se propuso determinar la actividad antioxidante de partes aéreas (tallos, hojas y flores) de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: la especie *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd., fue recolectada, por los autores del trabajo en la quebrada de Llaca, provincia de Huaraz, región Ancash (Perú). Dicha colecta se realizó en forma manual, para ello, se seleccionaron solo partes aéreas (hojas, tallos y flores). La planta fue identificada taxonómicamente de acuerdo al sistema de clasificación de Cronquist 1981⁽¹⁹⁾, por el biólogo Hamilton Beltrán Santiago, del Herbario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Reactivos y químicos: el difenilpicrilhidracil (DPPH) fue obtenido de Wako Chemicals USA, Inc. Rutina, etanol, éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo, de Merck ®. Todos los reactivos químicos fueron de grado analítico.

Obtención de extractos para el ensayo de actividad antioxidante: se seleccionaron partes aéreas de la planta (hojas, flores y tallo) la las cuales fueron secadas a temperatura ambiente bajo sombra y posteriormente en estufa a 40 °C. A continuación, se redujo hasta un tamaño apropiado con la ayuda de un molino manual. Quinientos gramos del material vegetal seco y molido fue sometido a extracción Soxhlet con etanol por espacio de cuatro horas. El líquido obtenido se filtró y concentró a sequedad en un evaporador rotatorio a una temperatura de hasta 40 °C. El extracto etanólico seco (EtOH) fue fraccionado usando solventes de polaridad creciente. Este extracto fue suspendido en una mezcla de éter de petróleo: agua (1:1) y luego tratado con diclorometano y acetato de etilo. Se obtuvieron así las fracciones de éter de petróleo (EterP), diclorometano (CH₂Cl₂), acetato de etilo (AcOEt) y residuo acuoso (RA) (Figura 1).

Análisis fitoquímico: se efectuó un tamizaje fitoquímico preliminar en las partes aéreas (hojas, flores y tallo) de la especie en estudio, con el fin de detectar los tipos de metabolitos secundarios presente en ella, de acuerdo al método propuesto por Lock ⁽²⁰⁾. Para ello, se usaron solventes de diferente polaridad y la identificación se realizó mediante reacciones de coloración y precipitación.

Asimismo, al extracto etanólico y las fracciones obtenidas, en los cuales se realizó la actividad antioxidante, se les sometieron a reacciones químicas de identificación de metabolitos secundarios, de acuerdo a los resultados del tamizaje fitoquímico preliminar.

Actividad antioxidante: se utilizó el método de neutralización del radical libre difenilpicrilhidracil (DPPH) de acuerdo al método realizado por Castillo y Lock ⁽²¹⁾. Se prepararon soluciones etanólicas (etanol) de las muestras a las concentraciones de 10 µg/mL y de 50 µg/mL; 1,8 mL de la solución etanólica se mezcló con 0,7 mL de la solución de difenilpicrilhidracil (DPPH) 0,03 mM en etanol. Después de 30 min de reposo a temperatura ambiente y protegido de la luz, se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV Visible VARIAN® S100. Estas determinaciones se realizaron por triplicado. Se preparó un blanco de la muestra en solución etanólica. Se utilizó la Rutina (Merck) como patrón de comparación. La evaluación de la actividad antioxidante se expresa como porcentaje y se determina de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% AA = 100 - \frac{(LM - LBM) \times 100}{LDPPH}$$

En donde:

- %AA = porcentaje de actividad antioxidante.
- LM = lectura de la absorbancia de la muestra.
- LBM = lectura de la absorbancia del blanco de la muestra.
- LDPPH = lectura de la absorbancia del DPPH.

Determinación de la concentración efectiva media (CE₅₀)

La concentración efectiva media (CE₅₀) se define como la concentración de la muestra (µg/mL) en la que se produce

el 50% de actividad antioxidante. Para este ensayo se tuvo en cuenta la concentración (g/mL) en que cada muestra manifestó su actividad antioxidante y, a partir de este dato, se prepararon las diluciones ensayadas para determinar la concentración efectiva media. A fin de comparar el valor de CE₅₀ del extracto más activo se determinó la CE₅₀ de la Rutina.

La concentración efectiva media (CE₅₀) se determinó por análisis de regresión lineal (porcentaje de actividad versus concentración) ^(22,23), con la siguiente ecuación:

$$CE_{50} = (50 - a)/b$$

Donde a = intercepto de la recta, b = valor absoluto de la pendiente de la recta.

Análisis de datos

Los resultados de actividad antioxidante de los extractos se expresaron como promedios del porcentaje de actividad antioxidante ± la desviación estándar. Asimismo, se analizaron los datos mediante el análisis de varianza de una cola con prueba postest de Scheffé, considerándose significativo un valor de p < 0,05.

La concentración efectiva media (CE₅₀) se determinó por análisis de regresión lineal (porcentaje de actividad versus concentración) ^(21,22). Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS v. 20 y para la obtención del valor de la CE₅₀ se utilizó el programa MS Excel para Windows v.2010.

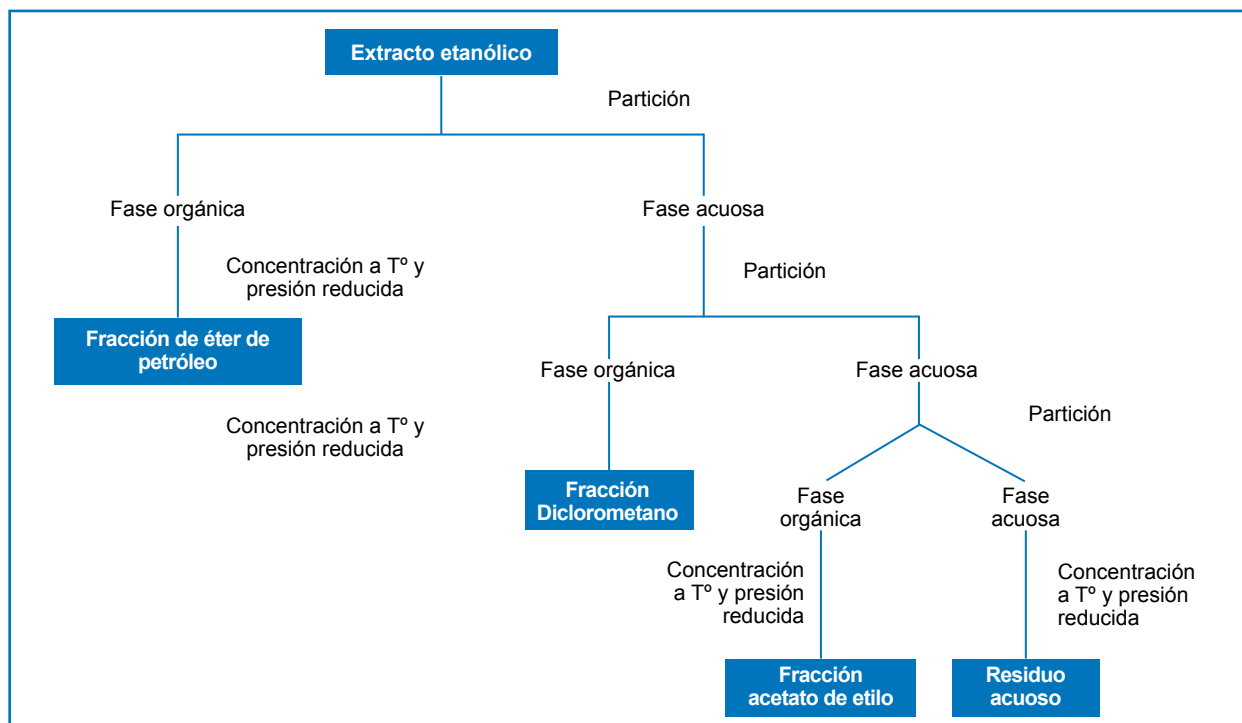


Gráfico 1. Fraccionamiento del extracto etanólico con solventes de diferente polaridad

RESULTADOS

En cuanto a los resultados del análisis fitoquímico preliminar de partes aéreas (hojas, flores y tallo) de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav) Wedd., estos indican la presencia de flavonoides, grupos fenólicos, triterpenos esteroides y catequinas (Tabla 1).

En cuanto al extracto etanólico y fracciones obtenidos, en los cuales se realizó la actividad antioxidante, se

detectó la presencia de flavonoides y grupos fenólicos libres en todos ellos, con excepción de la fracción de éter de petróleo. La reacción positiva a flavonoides se dio con mayor intensidad en la fracción de acetato de etilo. Las fracciones de éter de petróleo y de diclorometano dieron reacción positiva a triterpenos/esteroides. Las catequinas tuvieron reacción positiva en el extracto etanólico y en las fracciones de diclorometano y acetato de etilo (Tabla 2).

Tabla 1 Resultados del tamizaje fitoquímico preliminar de partes aéreas (hojas, tallos y flores) de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav) Wedd.

Metabolitos	Reacción	Resultado
Flavonoides	Shinoda	+
Grupos fenólicos	FeCl ₃	+
Taninos	Gelatina	-
Quinonas	Borntrager	-
Triterpenos/Esteroides	Lieberman-Burchard	+
Alcaloides	Mayer	-
	Dragendorf	-
Catequinas	Rosenheim	+

Se observa que la fracción acetato de etilo presentó la mayor actividad antioxidante a la concentración de 10 µg/mL con 19,25%, al igual que a la concentración de 50 µg/mL con 73,47%. Pero estos resultados fueron menores con respecto al patrón de referencia Rutina que mostró a la concentración de 10 µg/mL una actividad antioxidante de 72,89%, y a la concentración de 50 µg/mL 81,45%. Todos los extractos y fracciones, con excepción de la fracción de acetato

de etilo de 10 ug/mL y 50 ug/mL, mostraron diferencia significativa con respecto al patrón de referencia Rutina ($p < 0,05$); (Tabla 3 y Gráfico 2).

De acuerdo a lo mostrado en la tabla 3, la fracción de acetato de etilo presento una CE₅₀ de 28,37 µg/mL, pero inferior al estándar de referencia rutina que obtuvo 6,05 µg/mL (Tabla 4)

Tabla 2 Resultados de la detección de los tipos de compuestos en el extracto etanólico y fracciones de partes aéreas (hojas, tallo y flores) de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav) Wedd., utilizados en el ensayo de actividad antioxidante

Metabolitos	Reacción	Extracto/fracción				RA
		EtOH	EterP	CH ₂ Cl ₂	AcOEt	
Flavonoides	Shinoda	++	-	+	+++	+
Grupos fenólicos	FeCl ₃	+	-	+	+	+
Triterpenos/Esteroides	Lieberman-Burchard	-	+	+	-	-
Catequinas	Rosenheim	+	-	+	+	-

EtOH (extracto etanólico); EterP (fracción éter de petróleo); CH₂Cl₂; AcOEt (fracción acetato de etilo); RA (fracción residuo acuoso).

Tabla 3 Actividad antioxidante de extractos y fracciones de partes aéreas (hojas, tallos y flores) de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd.

EXTRACTO/FRACCIÓN	% Actividad antioxidante (promedio \pm D.E.)	Mínimo	Máximo	Intervalo de confianza 95%	
				Límite superior	Límite inferior
Etanólico 10 μ g/mL	9,75 \pm 3,88*	0,1174	19,3833	5,90	13,66
Etanólico 50 μ g/mL	38,32 \pm 1,87*	33,6692	42,9784	36,19	39,69
Diclorometano 10 μ g/mL	1,10 \pm 9,91*	-23,5160	25,7203	-10,27	7,91
Diclorometano 50 μ g/mL	24,11 \pm 0,33*	23,2827	24,9410	23,85	24,49
Éter de petróleo 10 μ g/mL	3,94 \pm 2,92*	-3,3225	11,2056	2,03	7,31
Éter de petróleo 50 μ g/mL	5,14 \pm 0,69*	3,4320	6,8481	4,40	5,76
Acetato de etilo 10 μ g/mL	19,25 \pm 1,74*	14,9310	23,5690	17,58	21,05
Acetato de etilo 50 μ g/mL	73,47 \pm 0,66	71,8346	75,1150	72,82	74,14
Acuoso 10 μ g/mL	9,28 \pm 1,90*	4,5699	13,9968	7,62	11,35
Acuoso 50 μ g/mL	33,55 \pm 2,08*	28,3801	38,7257	31,28	35,37
Rutina 10 μ g/mL	72,89 \pm 1,39	69,4502	76,3327	71,81	74,45
Rutina 50 μ g/mL	81,45 \pm 0,96	79,0738	83,8276	80,60	82,49

* Poseen diferencia con respecto al patrón de referencia Rutina ($p < 0,05$) test de Scheffé. D.E. (desviación estándar)

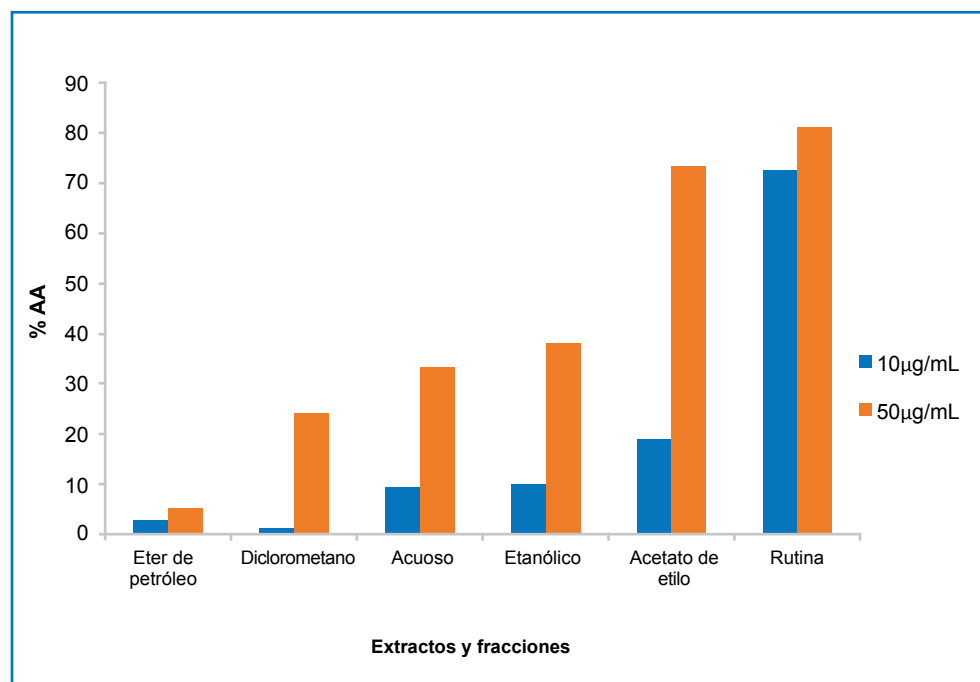


Gráfico 2 Actividad antioxidante de extractos y fracciones de partes aéreas (hojas, tallos y flores) de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd.

Tabla 4 Concentración efectiva media (CE50) de la fracción de acetato de etilo de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd., y de Rutina

Parámetros	Acetato de etilo	Rutina
CE ₅₀	28,37	6,05
Intercepto	7,0940	2,695
Intervalo de confianza 95%	-0,011 – 14,2	-15,71 – 21,1
Valor de p	0,05	0,67
Pendiente	1,51	7,82
Intervalo de confianza 95%	1,3 – 1,76	5,05 – 10,6
Valor de p	<0.001	0,0029
R ²	0,98957	0,9640733

DISCUSIÓN

Hasta el momento solo existe un estudio fitoquímico en la especie *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd. ⁽¹⁶⁾, la misma que detectó flavonoides y esteroides/triterpenos. En el presente estudio se reportan también flavonoides y esteroides/triterpenos y, adicionalmente, catequinas. Los grupos de metabolitos secundarios identificados en la especie guardan relación con los reportados en la literatura para la tribu *Inuleae* a la cual pertenece la especie ⁽¹⁸⁾.

La evaluación de la actividad antioxidante usando el método de neutralización del radical DPPH es la primera que se ha realizado en la especie *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd., y la primera en el género *Loricaria*. De acuerdo a los resultados obtenidos, la fracción de acetato de etilo fue la que tuvo la mayor actividad. Este hallazgo es similar al reportado por Algabr *et al.* ⁽²⁴⁾, quienes en un estudio de la actividad antioxidante de hojas de *Pilicaria jaubertii*, especie vegetal de la familia Asteraceae concluyen que el extracto de acetato de etilo posee la mayor actividad. Similares resultados los obtuvo Parejo *et al.* en la evaluación de actividad antioxidante realizado en partes aéreas (hojas, tallos y flores) de nueve especies bolivianas de la familia Asteraceae ⁽²⁵⁾.

En el análisis fitoquímico de la fracción de acetato de etilo, la de mayor actividad antioxidante del presente estudio, se confirma los antecedentes con respecto

a extractos y fracciones de dicho tipo, ya que por lo general exhiben niveles más altos de compuestos polifenólicos y flavonoides ^(24,25). Tanto estos metabolitos como las catequinas parecen estar relacionados con dicha actividad ⁽²⁶⁻²⁸⁾.

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, además de la inhibición de las oxidasas: lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y la xantina oxidasa; evitando así la formación de especies reactivas de oxígeno y de hidroxiperóxidos orgánicos ⁽²⁹⁾.

El estudio presenta algunas limitaciones, por ejemplo, el análisis de la capacidad antioxidante fue limitado, debido a que podrían haberse usado pruebas de mayor complejidad como el *scavenging* con H₂O₂, la actividad quelante de metales, sistemas de ácido linoleico, entre otros; que hubieran permitido caracterizar mejor la actividad antioxidante encontrada ⁽³⁰⁾.

Se sugiere realizar posteriores estudios que permitan caracterizar con precisión si la actividad antioxidante proviene de los tallos, hojas o flores de *Loricaria ferruginea* (Ruiz & Pav.) Wedd.

Agradecimientos: al profesor Manuel Valle Campos, por las facilidades otorgadas en el uso de los equipos del Laboratorio de Análisis Instrumental, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Elejalde Guerra JI. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. An Med Interna. junio de 2001;18(6):50–9.
2. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 2007;39(1):44–84.
3. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev. julio de 2010;4(8):118–26.

4. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 2002;18(10):872-9.
5. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism*. febrero de 2000;49(2 Suppl 1):3-8.
6. Fridovich I. Fundamental Aspects of Reactive Oxygen Species, or What's the Matter with Oxygen? *Ann N Y Acad Sci*. 1 de noviembre de 1999;893(1):13-8.
7. Bussmann RW, Malca G, Glenn A, Sharon D, Nilsen B, Parris B, *et al*. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. *J Ethnopharmacol*. 2011;137(1):121-40.
8. Sajkowska-Kozielewicz JJ, Kozielewicz P, Barnes NM, Wawer I, Paradowska K. Antioxidant, Cytotoxic, and Antiproliferative Activities and Total Polyphenol Contents of the Extracts of *Geissospermum reticulatum* Bark. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:2573580.
9. Abderrahim F, Huanatico E, Segura R, Arribas S, Gonzalez MC, Condezo-Hoyos L. Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano. *Food Chem*. 2015;183:83-90.
10. Dreifuss AA, Bastos-Pereira AL, Avila TV, Soley B da S, Rivero AJ, Aguilar JL, *et al*. Antitumoral and antioxidant effects of a hydroalcoholic extract of cat's claw (*Uncaria tomentosa*) (Willd. Ex Roem. & Schult) in an in vivo carcinosarcoma model. *J Ethnopharmacol*. 6 de julio de 2010;130(1):127-33.
11. De Feo V. Ethnomedical field study in northern Peruvian Andes with particular reference to divination practices. *J Ethnopharmacol*. 2003;85(2-3):243-56.
12. Bussmann RW, Glenn A, Sharon D. Healing the body and soul: Traditional remedies for "magical" ailments, nervous system and psychosomatic disorders in Northern Peru. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2010; 4(9): 580-629
13. Dillon M, Sagastegui A. Family Asteraceae Part V. *Fieldiana: Botany New Ser*, 1991. 26: 1-70.
14. Yarupaitán G, Albán J. Flora silvestre de los Andes centrales del Perú: un estudio en la zona de Quilcas, Junín. *Rev Peru Biol*. 2003;10(2):155-62.
15. Brako L, Zarucchi JL. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Perú. *Missouri Botanical Garden*; 1993. 1336 p.
16. Malca Garcia GR, Hennig L, Rodríguez Rodríguez EF, Bussmann RW. Coumarins of *Loricaria ferruginea*. *Rev Bras Farmacogn*. julio de 2016;26(4):471-3.
17. Bussman WR, Sharon D, Perez AF, Diaz PD. Antibacterial activity of northern-peruvian medicinal plants. *Arnaldoa* 2008; 15(1): 127 - 148.
18. Alvarenga SAV, Ferreira MJ, Emerenciano VP, Cabrol-Bass D. Chemosystematic studies of natural compounds isolated from Asteraceae: characterization of tribes by principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 2001; 56: 27-37
19. Cronquist A. An integrated system of classification of the flowering plants. Columbia University Press; Nueva York 1981
20. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 2.a Ed. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima; 1994: 300 p.
21. Castillo P, Lock O. Compuestos con actividad antioxidante en la especie *Lepechinia meyenii* (Walp). *Bol Soc Quim Per*. Oct 2005; 4 (71): 227-236.
22. Bejarano BL, Mormontoy LW, Tipacti AC. Muestreo e Inferencia Estadística en Ciencias de la Salud. 1.ª Ed. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima; 2006: 250 p.
23. Pagano M, Gauvreau K. Fundamentos de Bioestadística. 2.ª Ed. Thomson Learning. México; 2001: 525 p.
24. Algabr MN, Mekkiou R, Ameddah S, Menad A, Boumaza O, Seghiri R, Benayache S, Benayache F. Antioxydant activities from the aerial parts of *Pulicaria jaubertii*. *Advances in Natural and Applied Sciences*. 2010; 4(1): 63-70.
25. Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero A, Saavedra G, MurciaMA, Jimenez AM, Codina C. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences* 2003; 73: 1667-1681
26. Albayrak S, Aksoy A, Sa diç O, Budak Ü. Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey. *Turk J Biol*. 2010; 34: 463-473.
27. Enciso E, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *AnFacmed*. 2011; 72(4):231-7.
28. Fabri, R, Nogueira M, Dutra L, Bouzadam, Scio E, Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. *Rev Bras PIMed*. 2011; 13(2): 183-189.
29. Escamilla JCI, Cuevas EYM, Guevara JF. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM* Marzo-Abril 2009; 52 (2): 73-75.
30. Kumar S, Yadav A, Yadav M, Yadav JP. Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of Aloe vera (L.) Burm.f. *BMC Res Notes*. 25 de enero de 2017;10(1):60.