

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO

URRELO



Facultad de Ciencias de la Salud

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**COMPARACIÓN DE LOS PRINCIPALES METABOLITOS
ACTIVOS PRESENTES EN FLORES Y HOJAS DE *Robinia
pseudoacacia* “FLOR BLANCA” PARA APROVECHAR SUS
PROPIEDADES MEDICINALES**

Rocío del Carmen Sánchez Inga

Liseth Rosana Vasquez Culque

Asesora:

Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda

Cajamarca - Perú

Septiembre – 2019

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



Facultad de Ciencias de la Salud

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**COMPARACIÓN DE LOS PRINCIPALES METABOLITOS
ACTIVOS PRESENTES EN FLORES Y HOJAS DE *Robinia
pseudoacacia* “FLOR BLANCA” PARA APROVECHAR SUS
PROPIEDADES MEDICINALES**

Tesis presentada en cumplimiento parcial de los requerimientos para optar el
Título Profesional de Químico Farmacéutico

Rocío del Carmen Sánchez Inga

Liseth Rosana Vasquez Culque

Asesora: Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda

Cajamarca - Perú

Septiembre – 2019

COPYRIGHT © 2019 by

ROCÍO DEL CARMEN SÁNCHEZ INGA

LISETH ROSANA VASQUEZ CULQUE

Todos los derechos reservados

PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO DICTAMINADOR:

De conformidad con el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, sometemos a su evaluación y elevado criterio profesional la tesis intitulada:

Comparación de los principales metabolitos activos presentes en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales.

Con la cual aspiramos obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Es propicia esta oportunidad para manifestar nuestro sincero reconocimiento a nuestra Alma Mater y a toda su plana docente, que con su capacidad y buena voluntad contribuyeron a nuestra formación profesional.

Señores miembros del jurado, dejamos a su disposición la presente tesis para su evaluación y sugerencias.

Cajamarca, septiembre del 2019

Rocío del Carmen Sánchez Inga

BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Liseth Rosana Vasquez Culque

BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

APROBACIÓN DE TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO

FARMACÉUTICO

COMPARACIÓN DE LOS PRINCIPALES METABOLITOS ACTIVOS
PRESENTES EN FLORES Y HOJAS DE *ROBINIA PSEUDOACACIA* “FLOR
BLANCA” PARA APROVECHAR SUS PROPIEDADES MEDICINALES

JURADO EVALUADOR

Mg. Q.F. Yudith Gallardo Coronado
(Presidente)

Mg. Q.F. Alexander Jair Ríos Ñontol
(Secretario)

Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda
(Vocal)

DEDICATORIA

A Dios, por permitir llegar a culminar mi carrera profesional. A mis hijos, esposo, y suegros que gracias a ellos soy lo que soy. A mi madre que con su paciencia y amor me supo acompañar en esta etapa de mi vida. A mis hermanos por formar parte de mi vida y aportar un granito de arena en mi carrera profesional. A mi padre Abraham Sánchez Díaz, que ya no está aquí, pero desde el lugar donde esté celebra conmigo.

Rocío Sánchez

DEDICATORIA

A Dios forjador de mi camino, por darme la vida, la salud, múltiples bendiciones, y el que siempre me acompaña. A mi madre y hermano, que son el motor de mi vida. A mis tíos y tías, que han contribuido con grandes lazos en mi carrera profesional. A mi abuelita, desde el cielo celebrando con nosotros, que con sus enseñanzas de amor sellaron mi corazón con imborrables consejos. A mi esposo, quien formó parte de mi sacrificio, demostrando su amor y confianza. A mi hijita, quien ha sido mi mayor motivación, para nunca rendirme, y poder llegar ser un ejemplo para ella.

Liseth Vasquez

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo y a sus profesores, por los aprendizajes recibidos para nuestra formación profesional.
- Al Mg. Q.F. Fredy Martos Rodríguez, Mg. Q.F. Rafael Ricardo Tejada Rossi y la Q.F. Miriam Gómez Rodríguez, por su apoyo en el manejo de los equipos y materiales del Laboratorio de Biología de la UPAGU.
- A la Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda, por su aporte en la asesoría de la tesis, por su tiempo empleado para que esta tesis se ejecute.

Rocío y Liseth

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo comparar los principales metabolitos activos presentes en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales.

El material vegetal se obtuvo del distrito de San Marcos, provincia de San Marcos, Región Cajamarca; utilizando las técnicas de recolección, y de acuerdo a los criterios de inclusión y de exclusión. Para la metodología se trabajó con 100 g de polvo de hojas y 100 g de polvo de flores. Para la determinación de flavonoides se utilizó la reacción de cianidina o shivata, para los taninos se utilizó la reacción de cloruro férrico al 1%, y para los polisacáridos se utilizó la solución yodo – diyodo o reacción de lugol. Para la cuantificación de flavonoides se utilizó el método espectrofotométrico, para los taninos se utilizó el método tungsto – molíbdico – fosfórico, y para los polisacáridos se utilizó el método de DNS (ácido 3,5 – dinitrosalicílico). Los resultados mostraron que el polvo de las flores contiene 2,64% de flavonoides, 1,80% de taninos, y 0,1645% de polisacáridos; en el polvo de las hojas se obtuvo 4,24% de flavonoides, 1,51% de taninos, y 0,1675% de polisacáridos. En conclusión, las hojas contienen mayor concentración de flavonoides y las flores mayor concentración de taninos, los que pueden utilizarse para el tratamiento de muchas dolencias en los humanos dentro de la sociedad.

Palabras Clave: *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

The present work of research aimed to compare the main active metabolites present in flowers and leaves of *Robinia pseudoacacia* "white flower" to take advantage of its medicinal properties.

The vegetal material was obtained from the district of San Marcos, province of San Marcos, Cajamarca Region; using the collection techniques, and according to the inclusion and exclusion criteria. For the methodology we worked with 100 g of leaf powder and 100 g of flower powder. For the determination of flavonoids the reaction of cyanidin or shivata was used, for the tannins the ferric chloride reaction was used at 1%, and for the polysaccharides the iodine-diiodo solution or lugol reaction was used. For the quantification of flavonoids the spectrophotometric method was used, for the tannins the tungsto - molybdic - phosphoric method was used, and for the polysaccharides the DNS method (3,5 - dinitrosalicylic acid) was used. The results showed that flower powder contains 2,64% flavonoids, 1,80% tannins, and 0,1645% polysaccharides; in the powder of the leaves, 4,24% of flavonoids, 1,51% of tannins, and 0,1675% of polysaccharides were obtained. In conclusion, the leaves contain a higher concentration of flavonoids and the flowers have a higher concentration of tannins, which can be used to treat many ailments in humans within society.

Keywords: *Robinia pseudoacacia* "white flower", secondary metabolites.

ÍNDICE

PRESENTACIÓN	iii
JURADO EVALUADOR	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABLAS	xiii
INDICE	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Teorías que sustentan la investigación	4
2.2. Bases teóricas	7
2.2.1. <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	7
2.2.2. Metabolitos secundarios	12
2.2.3. Clases de metabolitos secundarios	12
2.2.4. Función de los metabolitos secundarios	14
2.2.5. Componentes activos de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	14
2.2.6. Flavonoides	15
2.2.7. Taninos	21
2.2.8. Polisacáridos	28
III. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	36

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra	36
3.1.1. Unidad de análisis	36
3.1.2. Universo	36
3.1.3. Muestra	36
3.2. Método de Investigación	37
3.2.1. De acuerdo al fin que se persigue	37
3.2.2. De acuerdo al diseño de contrastación	37
3.3. Técnicas de investigación	37
3.3.1. Obtención y preparación de la muestra vegetal	37
3.3.2. Preparación y obtención del extracto	39
3.3.3. Identificación de metabolitos secundarios para las flores y hojas de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	40
3.3.4. Cuantificación de metabolitos secundarios	41
3.3.5. Recopilación y evaluación de estudios de las propiedades medicinales de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	48
3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos	48
3.5. Técnicas de análisis de datos	50
IV. RESULTADOS	52
V. DISCUSIÓN	61
VI. CONCLUSIONES	66
VII. RECOMENDACIONES	67
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
ANEXOS	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 01:	Robinia pseudoacacia “flor blanca”	8
Figura 02:	Vía sintética de los metabolitos primarios y secundarios	13
Figura 03:	Estructura base de los flavonoides	16
Figura 04:	Estructura base de la flavona	16
Figura 05:	Estructura base de los flavonoides	17
Figura 06:	Estructura de la catequina	17
Figura 07:	Estructura general de las antocianinas	18
Figura 08:	Ruta de síntesis de los flavonoides	19
Figura 09:	Ácido gálico (tanino representativo)	22
Figura 10:	1,2,3,4,6 – pentagaloiil – glucosa (PGG)	23
Figura 11:	Procianidina B1	24
Figura 12:	Estructura química del ácido gálico (tanino hidrolizable)	24
Figura 13:	Estructura química del ácido elágico	25
Figura 14:	Estructura química del ecol (florotanino)	25
Figura 15:	Síntesis de los taninos	26
Figura 16:	Estructura básica de las peptinas	29
Figura 17:	Estructura básica de la inulina	30
Figura 18:	Estructura básica de los Fructooligosacáridos	31
Figura 19:	Estructura básica de los galactooligosacáridos	32
Figura 20	Curva patrón para la cuantificación de polisacáridos en flores y hojas de Robinia pseudoacacia “flor blanca”	60

LISTA DE TABLAS

Tabla 1:	Preparación de las soluciones patrón para taninos	43
Tabla 2:	Preparación del complejo coloreado	44
Tabla 3:	Preparación de las soluciones para taninos	44
Tabla 4:	Preparación de las soluciones patrones para elaborar una curva patrón	47
Tabla 5:	Identificación de metabolitos en flores de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	52
Tabla 6	Identificación de metabolitos en hojas de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	53
Tabla 7	Concentración de flavonoides en flores y hojas de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	54
Tabla 8	Absorbancia y concentración de flavonoides en flores y hojas de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	55
Tabla 9	Concentración de taninos en flores y hojas de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	56
Tabla 10	Absorbancia y concentración de taninos en flores y hojas de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	57
Tabla 11	Concentración de polisacáridos en flores y hojas de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	58
Tabla 12	Absorbancia y concentración de polisacáridos en flores y hojas de <i>Robinia pseudoacacia</i> “flor blanca”	59

I. INTRODUCCIÓN

Desde hace muchos años el hombre ha tenido un papel importante en la búsqueda de información de las plantas medicinales, descubriendo sus propiedades y dándole un valor farmacológico. Sin embargo, en la actualidad existen muchos vegetales de los cuales falta conocer sus componentes fitoquímicos, y que siguen siendo utilizados en beneficio de la salud por los pobladores rurales, así tenemos, a *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, una especie empleada mayormente como conservadora de suelos, considerada como leguminosa y que en sus raíces posee bacterias fijadoras de nitrógeno¹. Cabe mencionar que esta planta es considerada por muchos pobladores como una planta sagrada por sus propiedades y beneficios medicinales.

La obtención de estructuras farmacoquímicas nuevas a partir de vegetales superiores, con actividad biológica, permite realizar investigaciones en farmacognosia para la obtención de sus principales metabolitos secundarios; y del adiestramiento en el uso de métodos y técnicas farmacéuticas para su identificación y cuantificación².

Además, el conocimiento herbario de las distintas culturas ha ido profundizando y enriqueciéndose durante muchos años, consiguiendo clasificar muchas de las especies vegetales según sus propiedades medicinales.

El uso de las plantas medicinales es el pilar fundamental de la farmacoterapia actual y se sabe que su utilización, constituye la base de la salud y bienestar, quizás es por ello que el uso de estas ha ido en aumento en los últimos años en todo el mundo. Sin embargo, es necesario conocer los metabolitos secundarios que constituyen las

plantas permitiendo así aplicar estrategias de control de enfermedades, convirtiéndolas en fuentes potenciales de compuestos que podrían ser empleados en los campos de Biología, Agronomía, Medicina Humana y Veterinaria. El interés de investigar los principales metabolitos secundarios permitirá diferenciar sus propiedades biológicas con un valor medicinal y económico.

Por todo lo anteriormente mencionado, en el presente trabajo de investigación, se formuló la siguiente pregunta:

¿Hay diferencia entre las concentraciones de los principales metabolitos activos en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales?

Para dar respuesta al problema planteado se formularon los siguientes objetivos:

Como objetivo general:

- Comparar los principales metabolitos activos presentes en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales.

Y como objetivos específicos:

- Identificar metabolitos activos presentes en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales.
- Cuantificar flavonoides como metabolitos activos presentes en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales.

- Cuantificar taninos como metabolitos activos presentes en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales.
- Cuantificar polisacáridos como metabolitos activos presentes en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales.

Ante lo cual se postuló la siguiente hipótesis:

- Los principales metabolitos activos de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” se encuentran en cantidades mayores en las hojas frente a las flores.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Teorías que sustentan la investigación

Joong K, Myung B, Young K (1995)³, en su investigación “Composición química de la flor de acacia (*Robinia pseudoacacia*)” determinaron la composición química para utilizar la flor de acacia como alimento. La composición química mostró 24,55% de proteína, 8,51% de ceniza, 40,97% de azúcar total y 160,44 mg de ácido ascórbico en base a materia seca.³

El azúcar libre estaba compuesto principalmente de fructosa, sacarosa y glucosa. En la composición de ácidos grasos, la proporción de ácidos grasos saturados e insaturados fue de 1,7:1. Los ácidos insaturados estaban compuestos principalmente por ácido polienoico en más del 90%. El aminoácido se distribuyó con una relación de 0,32 de aminoácidos esenciales a totales. Elementos importantes de la flor de acacia fueron K, Mg, Ca, Fe y Na. Los componentes del sabor tales como 24,19% de ácido octadecanoico, 9,41% de alcohol bencílico, 7,05% de linalol, 5,43% de heptacosano y 4,28% de geraniol fueron identificados como los principales compuestos volátiles de la flor de acacia.

Talas-Ogras T et al (2005)⁴, en el estudio “Actividad antibacteriana de las proteínas de la semilla de *Robinia pseudoacacia*” mencionaron que se

aislaron un péptido catiónico de bajo peso molecular a partir de la semilla; concluyendo que esta especie vegetal contiene metabolitos secundarios que podrían actuar como antibióticos frente a: *Corynebacterium michiganense*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Erwinia carotovora* subespecie *carotovora*, *Pseudomonas syringae* pv *syringae*, *Xanthomonas campestris* pv *campestris* y *Escherichia coli*.

Nigel C, Peter C, Geoffrey C, Gwilym L (2009)⁵, en su estudio “Flavonoid glycosides of the black locust tree, *Robinia pseudoacacia* (Leguminosae)” encontraron cuatro glicósidos de flavona aislados a partir de extractos de las hojas, se caracterizaron por métodos espectroscópicos y químicos, encontrando 7 - O - beta - D - glucurono piranosil - (1 - > 2) [alfa - L - ramno piranosil - (1 - > 6)] - beta - D - glucopiranosidos de acacetin (5,7 - dihidroxi - 4 - metoxiflavona), apigenina (5,7,4 - trihidroxiflavona), diosmetina (5,7,3 - trihidroxi 4 - metoxiflavona) y luteolina (5, 7, 3, 4 - tetrahidroxiflavona). También realizaron la comparación de la química de flavonoides de hojas y flores de *Robinia pseudoacacia* utilizando LC - UV y LC - MS mostrando que la flavona 7 - O - glucósidos, en particular de acacetin, predominaba en el primero, mientras que el flavonol 3,7 - di - O - glucósidos no predominaba.

Sarikurkcü C, Kocak M, Tepe B, Uren M (2015)⁶, en su investigación “An alternative antioxidative and enzyme inhibitory agent from Turkey: *Robinia pseudoacacia* L.” tuvo como objetivo evaluar las actividades antioxidantes y enzimáticas inhibitoras de los extractos de acetato de etilo,

acetona, metanol y agua de las flores de *Robinia pseudoacacia* L., así como sus fenoles totales, flavonoides, taninos condensados y ácidos grasos. Los compuestos fenólicos y flavonoides totales se encontraron en las cantidades más altas en extractos de acetona y metanol, respectivamente. El extracto acuoso tuvo los niveles más bajos de tanino fenólico y flavonoide en comparación con los otros. En el ensayo de fosfomolibdeno, el extracto de metanol que se encuentra como el más rico en flavonoides exhibió la actividad más alta (110,41 mg de extracto). Por otro lado, el extracto de acetona que es rico en compuestos fenólicos exhibió el potencial de reducción más alto en ferricianuro de potasio y ensayos FRAP (The ferric reducing ability of plasma) (300,45 y 231,90 mg de extracto, respectivamente).

Yang S et al (2017)⁷, en su estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos inmunopotenciadores de los polisacáridos de *Robinia Pseudoacacia* (TRPPS) en conejos inoculados con una vacuna inactivada contra el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV). Los conejos se administraron con la vacuna RHDV junto con concentraciones variables de TRPPS, y sus muestras de sangre se recogieron en diferentes momentos para analizar la relación y el número de linfocitos sanguíneos. Además, los sueros se prepararon y analizaron para determinar el título total de anticuerpos y el nivel de IL - 2, una citocina comúnmente utilizada como un indicador de la actividad inmune. Se demostró que las diversas vacunas suplementadas con TRPPS son más efectivas para mejorar las funciones inmunes de los conejos inoculados en comparación con sus equivalentes libres de polisacáridos, con 200 mg/mL de

TRPPS que presentan los beneficios más pronunciados que eran comparables a los del propóleo. Además, las vacunas inactivadas con RHDV suplementado con TRPPS podrían mejorar significativamente las tasas de supervivencia de los conejos inmunizados contra la infección por RHDV. El estudio ofreció evidencia experimental convincente para el desarrollo de TRPPS como un nuevo tipo de inmunopotenciador derivado de plantas.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Árbol originario del centro y Este de Estados Unidos (Pennsylvania y Ohio por el Norte, Missouri y Alabama por el Sur y Oklahoma por el Oeste) Actualmente está naturalizado desde el sur de Canadá hasta California, llegando hasta el norte de Chile y Argentina. Se encuentra muy distribuido por todo el Perú, especialmente en los andes peruanos. Considerado como árbol caducifolio de copa ancha y tronco corto muy fisurado. Ramas jóvenes espinosas. Esta leguminosa es un árbol de rápido crecimiento, de corteza gris y agrietada. El nombre de Robinia está dedicado al jardinero francés Jean Robin, que fue el primero en cultivar este árbol en Europa, y la palabra pseudoacacia quiere decir ‘falsa acacia’, que es el que le da el nombre común⁸.

Florece en Abril – Mayo, sus flores salen al final de la primavera en racimos numerosos, blancos, aromáticos y colgantes. Fruto en legumbre de

5 - 10 cm de longitud, aplanado, castaño cuando madura, permaneciendo en el árbol bastante tiempo. Semillas oscuras⁸.



Figura 01: *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Fuente: Swamy S, Puri S, Kanwar K. Propagación de *Robinia pseudoacacia*. Rev. Agroforestry Systems. [Internet] 2002; 3 (55): 231 – 7⁸.

2.2.1.1. Descripción taxonómica

REINO	: Plantae.
SUBREINO	: Tracheobionta.
DIVISIÓN	: Magnoliophyta.
CLASE	: Magnoliopsida.
SUBCLASE	: Rosidae.
ORDEN	: Fabales.
FAMILIA	: Fabaceae.
SUBFAMILIA	: Faboideae.

TRIBU : Robinieae.
GÉNERO : Robinia
ESPECIE : *Robinia pseudoacacia*

2.2.1.2. Biología

Árbol caducifolio que puede medir hasta 25 m, espinoso, tiene sistema radicular robusto, es rastrero y largo, con capacidad para emitir retoños. Entre los meses de marzo a julio produce una inflorescencia amplia, con flores en racimos colgantes de 10 - 20 cm de longitud, con la corola de color blanco y una mancha amarilla. Son muy olorosas y visitadas por las abejas⁹.

Su reproducción es principalmente por semilla, sin embargo, se puede realizar brotes de la raíz. Tiene un mejor crecimiento y desarrollo en suelos silíceos, profundos y fértiles. Su longevidad puede llegar entre 200 a 300 años, cuando crece entre otros árboles opta por una competencia territorial. Su simbiosis lo realiza con bacterias del género *Rhizobium*, formando nódulos radiculares que fijan nitrógeno atmosférico. En sequías prolongados no soporta su supervivencia, por lo que busca la frescura de los ambientes fluviales. Tiene resistencia a las bajas temperaturas del invierno y a las atmósferas contaminadas, por lo que muchas ciudades lo utilizan como árbol ornamental urbano.³² Tiene hojas alternas, de hasta 30 cm de longitud. Poseen 9 - 19 folíolos elípticos de 3 - 4 cm de longitud, de color verde intenso en el haz y

algo grisáceos en el envés, contraste que se aprecia cuando el viento agita la copa⁸.

2.2.1.3. Distribución

Originaria de los Estados Unidos, más precisamente de los montes Apalaches, se ha naturalizado en gran parte de los Estados Unidos, en el sur de Canadá y en Europa, desde el sur de Inglaterra y de Suecia hasta Grecia, Chipre, los montes del sur de Italia y de España (sobre todo en la vertiente cantábrica y el este)⁹.

Muy frecuente en el centro de Europa: Francia, Alemania, Bélgica, Países Bajos, Rumanía, Hungría, norte de Italia, Suiza y este de Austria. Se encuentra también en Turquía, Israel, Túnez, China, Corea del Sur, Australia, Nueva Zelanda y Chile⁹.

Esta abundantemente difundida en Argentina, donde se ha naturalizado en el medio rural. Encuentra buenas condiciones para su crecimiento en la Región de la Pradera Pampeana de República Argentina, comprendida por las provincias de Buenos Aires, Entre Ríos, Centro - Sur de Santa Fe y Córdoba, y Este de La Pampa. En la península ibérica, la robinia tuvo uso forestal, restringido a las zonas de clima más favorable para la especie. Las plantaciones más importantes se realizaron en el norte de la costa atlántica y en el norte de la costa mediterránea, lugares en los que se naturalizó. No obstante, el uso más extendido de la robinia en la península ibérica ha sido el ornamental⁹.

2.2.1.4. Uso histórico o tradicional

La acacia falsa, originaria de América, fue introducida en Europa a principios del siglo XVII por Jean Robin, de donde toma su nombre botánico.¹⁰

Sangrando las ramas de las especies *Acacia nilotica* y la *Acacia arabica* se obtiene la goma arábica utilizada en la composición de varios preparados farmacéuticos por sus propiedades emolientes, útil contra la inflamación de las mucosas digestivas¹⁰

2.2.1.5. Modo de empleo

- Infusión: Flores: Para la preparación se hierve 10 gramos en medio litro de agua y se endulza con miel. Tomar de 1 a 3 tazas al día. Se recomienda para casos de bronquitis o tos⁸.
- Decocción: Hervir en 250 mL de agua, 25 gramos de flores secas, durante 15 minutos. Tomarse caliente dos veces al día en caso de fiebre⁸.
- Ungüento: Mezclar un poco de goma arábica en polvo y una clara de huevo. Aplicar en caso de quemadura como cataplasma sobre la zona afectada. Evita las ampollas⁸.

2.2.2. Metabolitos secundarios

Las plantas contienen productos sintetizados de su metabolismo primario y secundario, en función de su beneficio, a los componentes secundarios son llamados principios activos, provenientes de reacciones y oxidaciones produciendo polímeros como taninos, ligninas, flavonoides y oligosacáridos.¹¹ Los metabolitos secundarios son sustancias químicas que pueden o no intervenir en el proceso de desarrollo de las plantas.¹² Es decir no intervienen directamente en el desarrollo, crecimiento y reproducción¹³. Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario del carbono¹⁴.

2.2.3. Clases de metabolitos secundarios

Se tiene cuatro agrupaciones¹⁴:

- Terpenos: hormonas, pigmentos o aceites esenciales.
- Compuestos fenólicos: cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.
- Glicósidos: saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos.
- Alcaloides.

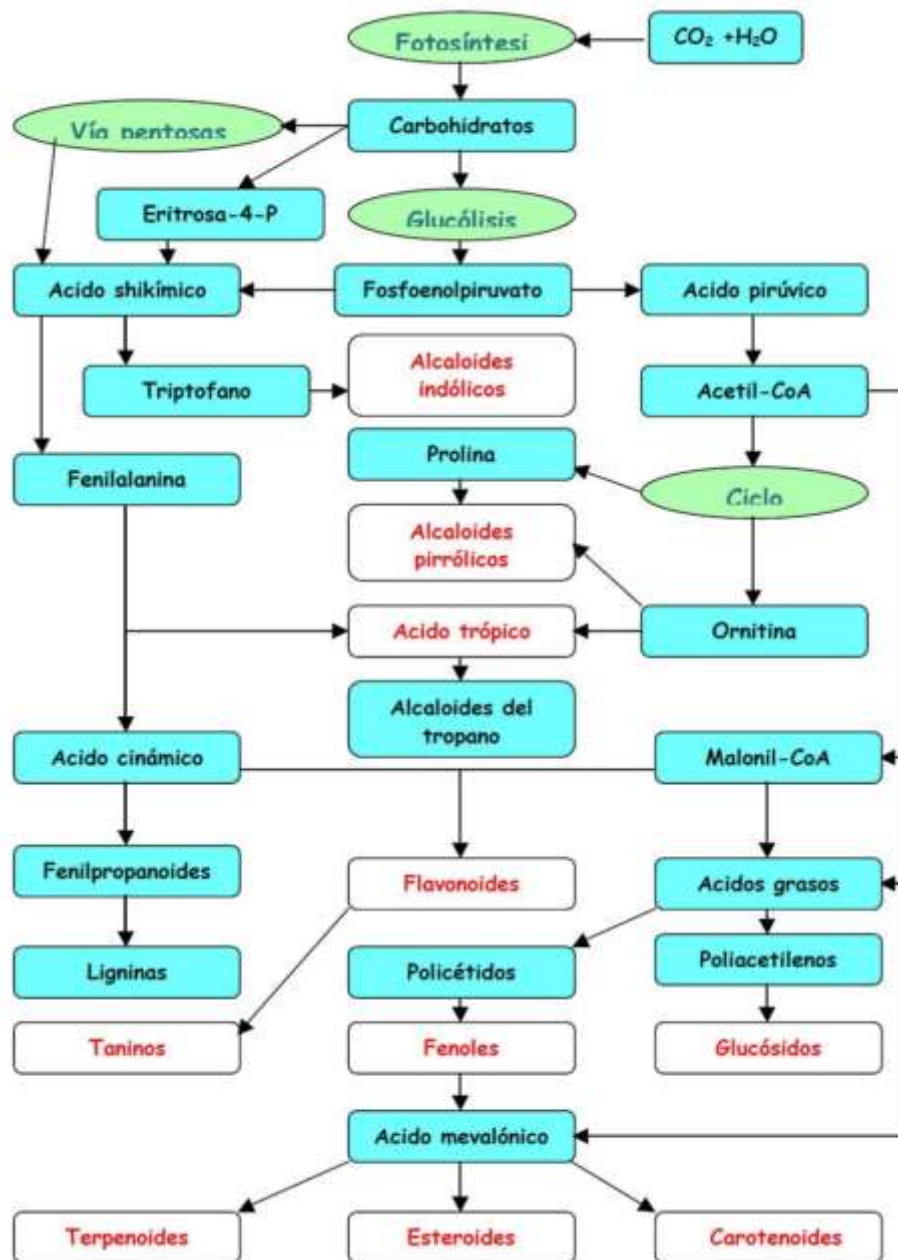


Figura 02: Vía sintética de los metabolitos primarios y secundarios

Fuente: Lorente B. Aislamiento, purificación, caracterización y producción in vitro de peptidasas de alcaucil coagulantes de la leche. Buenos Aires: Universidad Nacional de La Plata; 2002¹⁵.

2.2.4. Función de los metabolitos secundarios

La mayoría de los metabolitos secundarios cumplen la función de:

- Ecológicas, son atraentes o repelentes de animales, insectos.
Elaboran pigmentos que dan color a flores y frutos¹⁴.
- Fundamentalmente para la reproducción, permitiendo atraer a insectos polinizadores, o a animales que consumen frutos favoreciendo la dispersión de semillas¹⁴.

2.2.5. Componentes activos de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Las hojas y las flores, contienen glucósidos (robinia), flavonoides, tanino y aceite esencial y se usan para aliviar los espasmos de las vísceras (antiespasmódicas); facilitan el vaciamiento de la bilis (colagogas) y suavizar la piel y las mucosas (emolientes) en casos de exceso de ácido. Se usan también como estomacales en casos de digestión pesada (dispepsia). Las irritaciones de la garganta se alivian con gargarismos de infusión de Acacia⁵.

2.2.6. Flavonoides

Son compuestos polifenólicos derivando del fenol (anillo aromático con un grupo hidroxilo), aromáticos con un grupo cetona y pigmentos de coloración amarilla¹⁴.

a. Localización de la planta

Se encuentran distribuidos en: flores, semillas, frutas. También se ubican en hojas y exterior de la planta¹⁶.

b. Características

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales cuya función es la de proteger al organismo de agentes medio ambientales como: agentes oxidantes, rayos ultravioletas, contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc¹⁶.

El ser humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben consumirse durante la alimentación o en forma de suplementos¹⁶.

c. Estructura química

Los flavonoides poseen en su estructura química: grupos hidroxilo fenólicos y de quelación del hierro, además otros metales de transición, (con gran capacidad antioxidante). Son caracterizados por ser de bajo peso molecular¹⁶.

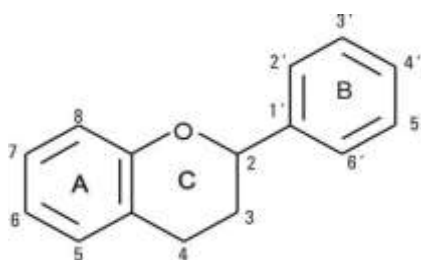


Figura 03: Estructura base de los flavonoides

Fuente: Pérez G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Rev. Scielo. [Internet]. 2003; 22 (1): 48 – 57¹⁷.

Los flavonoides son considerados como compuestos de bajo peso molecular que contienen un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'¹⁷.

d. Clasificación

- **Flavonas:** como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3¹⁸.

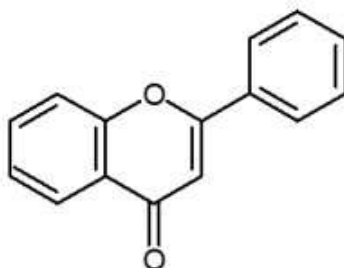


Figura 04: Estructura base de la flavona

Fuente: Cancela M. Flavonoides. [sede Web]. [s.l.]: Cancela M; 2018¹⁸.

- **Flavonoles:** representados por la quercetina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C¹⁹.

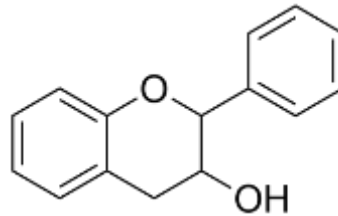


Figura 05: Estructura base de los flavonoles

Fuente: Google map. Commons W. Flavan-3-ol. 2018¹⁹.

- **Catequinas:** conocidos como flavanol, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C¹⁹.

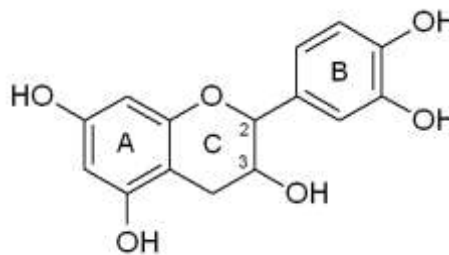


Figura 06: Estructura de la catequina

Fuente: Google map. Commons W. Flavan-3-ol. 2018¹⁹.

- **Antocianinas:** son pigmentos vegetales de color azulados, rojos oscuro o morado, que contienen las plantas, tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C²⁰.

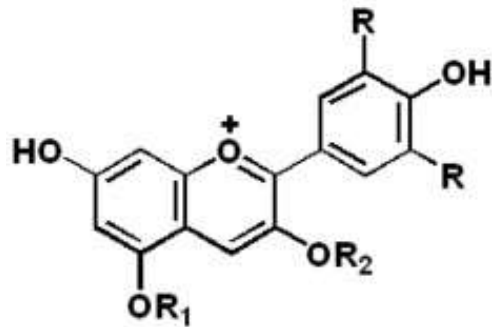


Figura 07: Estructura general de las antocianinas

Fuente: Aguilera M, Reza M, Chew R, Meza J. Propiedades funcionales de las antocianinas. Rev. Ciencias Biológicas y de Salud. [Internet]. 2011; 2 - 7²⁰

e. Síntesis

La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina. La enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la formación de ácido cinámico por eliminación de una molécula de amonio de la fenilalanina. Esta enzima está situada en un punto de ramificación entre el metabolismo primario y secundario por lo que la reacción que cataliza es una importante etapa reguladora en la formación de muchos compuestos fenólicos. Los ácidos trans - cinámico y *p* - cumárico se metabolizan para formar ácido ferúlico y ácido caféico cuya principal función es ser precursores de otros derivados más complejos: cumarinas, lignina, taninos, flavonoides e isoflavonoides¹⁴.

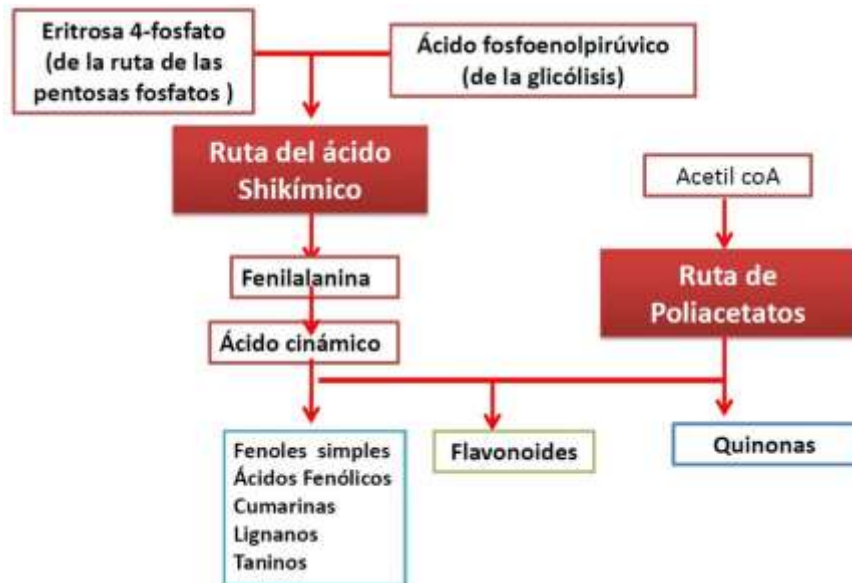


Figura 08: Ruta de síntesis de los flavonoides

Fuente: Soto M. Clase de metabolitos secundarios y ruta de ácido shikímico. [Educación]. 2013²¹.

f. Acción farmacológica

Los flavonoides tienen alta capacidad de acción farmacológica en los sistemas biológicos. Se unen a polímeros biológicos, como: enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; tienden a quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres.¹ De manera general se podría decir que presentan las siguientes acciones²¹:

- Acción vitamina P (Factor antiescorbútico)
- Antihemorrágicos
- Antiarrítmicos

- Protectores de la pared vascular o capilar
- Vasodilatador (naringenina, eriodictyol y luteolina)
- Antiinflamatoria (isoflavanquinonas, biflavonoides)
- Antioxidante (antirradicales libres)
- Antihepatotóxicos (flavona, lignanos, derivados de catequinas, biflavonas, flavolignanos)
- Antivíricos
- Antimicóticas (chalconas, Isoflavonas y flavanonas)
- Astringentes
- Diuréticos
- Antiurémicos
- Antiespasmódicos (flavonoles)
- Antitumoral (algunos flavonoles, flavonas y biflavonas)
- Anticancerígeno (quercetina y la rutina)
- Antialérgica (Isoflavanquinonas)
- Antiagregante plaquetario (antocianósidos y derivados de flavonas y flavonoles)

g. Método de cuantificación

- **Método espectrofotométrico para cuantificar flavonoides totales expresados como quercetina:**

Este método mide la cantidad de intensidad de luz absorbida después de pasar a través de una solución muestra en función a la longitud de onda. Es decir, se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración. Cuando se

hace incidir luz monocromática (de una sola longitud de onda) sobre un medio homogéneo, una parte de la luz incidente es absorbida por el medio y otra transmitida. La radiación electromagnética puede entenderse a partir de los parámetros de onda sinusoidal clásicos (como longitud de onda, frecuencia, amplitud de onda y velocidad), se representa como un campo eléctrico y otro magnético que están en fase, con oscilaciones sinusoidales en ángulo recto de uno respecto a otro y respecto a la dirección de propagación; y no necesita un medio de apoyo para transmitirse. La componente eléctrica de la radiación es la responsable de la mayoría de los fenómenos que interesan como la transmisión, la reflexión, la refracción y la absorción²².

2.2.7. Taninos

Los taninos son compuestos pertenecientes a la familia de los fenólicos poliméricos, al igual que los flavonoides. Se unen a proteínas desnaturalizándolas. Estos compuestos son de origen vegetal, con masa molecular relativamente elevada, y de sabor astringente^{14,21}.

a. Características

- Su carácter hidrosoluble permite que sea de fácil extracción y de utilidad en diversos usos en la industria química y farmacéutica.
- Son de composición química variable distinguiéndose por la característica común de ser astringentes.

- Sus propiedades coagulantes permiten ser utilizados para interferir en la absorción de alcaloides y metales pesados.
- Algunas personas con dificultades digestivas pudieran presentar alguna intolerancia, por lo que deben ser administradas con precaución en estos casos y las plantas que contienen taninos no deben ser consumidas por períodos prolongados pues inhiben la absorción de algunas vitaminas y minerales.
- Estas propiedades de precipitar los compuestos complejos (Metales pesados: Fe, Pb, Zn, Cu; Agua de cal y de barita; Wolframato sódico; Molibdato amónico; Proteínas: polvo de piel, gelatina, albúmina, etc.; Alcaloides, los taninos son contravenenos eficaces) son utilizadas en la industria para la elaboración de vinos, cervezas, para curtir pieles, la elaboración de tintas y como mordiente en la industria textil.

b. Estructura química

Los taninos son solubles en agua, fácilmente precipitables, al oxidarse forman flobafenos²³.

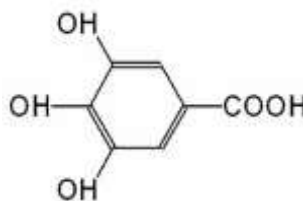


Figura 09: Ácido gálico (tanino representativo)

Fuente: Medc. Diccionario médico ilustrado: Mediclopedia. [sede Web]. [s.l.]: Medc; 2017²³.

c. Clasificación

- **Los taninos condensados**, son polímeros unidas por enlaces C - C, estos polímeros y oligómeros de unidades de flavonoides (unidades flavan - 3 - oles o catequinas) no pueden ser hidrolizados pero sí oxidados, gracias a un ácido fuerte especialmente para la obtención de antocianidinas¹⁴.

El más estudiado es pentagalolil glucosa (PGG), al que se le reconoce cierta actividad anticancerígena, antidiabética y antioxidante en modelos experimentales in vitro²⁴.

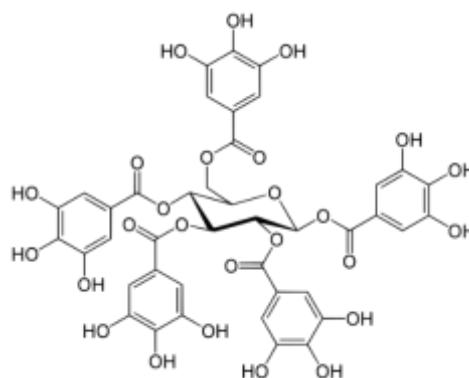


Figura 10: 1,2,3,4,6 – pentagalolil - glucosa (PGG)

Fuente: Google. Pentagalolil Glucosa, 2013²⁵.

La actividad anti cancerígena in vivo de la PGG se ha probado para cáncer de próstata y pulmón. No solo impide el crecimiento de tumores, sino también disminuye su tamaño, impidiendo procesos de angiogénesis, y supresión de la expresión de oncoproteínas. Otros estudios exhiben a estos taninos con actividad antitumoral contra sarcomas²⁴.

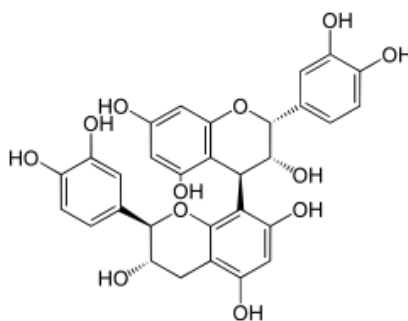


Figura 11: Procianidina B1

Fuente: Yikrazuul L. [sede Web].
[s.l.]: Yikrazuul. Procyanidin
B1.svg. 2017²⁶.

- **Los taninos hidrolizables**, son polímeros heterogéneos, contienen ácidos fenólicos, sobre todo ácido gálico y azúcares simples; son más pequeños que los condensados y se hidrolizan más fácilmente³. Esta clase de taninos son los más utilizados en la farmacéutica, especialmente por sus propiedades nutraceúticas.

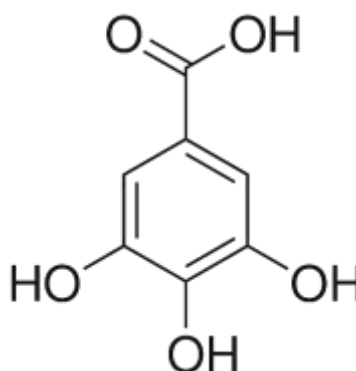


Figura 12: Estructura química del ácido 3, 4, 5-trihidroxibenzoico (tanino hidrolizable)

Fuente: Girbés T, Jimenez P. Avances en Medicina: nuevas terapias contra algunos tumores. Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía. 2008; 45: 261-74²⁷.

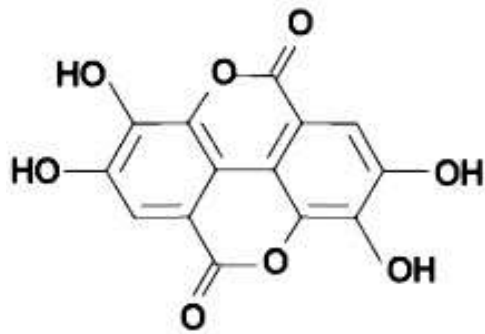


Figura 13: Estructura química del ácido elágico

Fuente: Commons W. Ácido elágico google map. [sede Web]. [s.l.]: Commons W; 2007²⁸.

- **Florotaninos**, esta tercera clase de taninos, recientemente descubiertos en algas se encuentra presente en algas oscuras del phylum *Phaeophyta*²⁹.

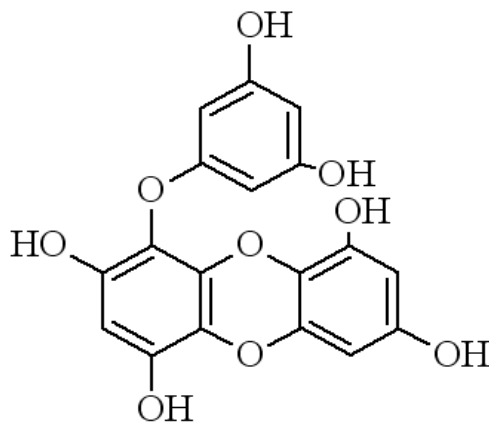


Figura 14: Estructura química de eckol (florotanino)

Fuente: Nono N. Chemical structure of eckol. In: Eckol.PNG [sede Web]. [s.l.]: Nono N; 2010. [Citado el 04 de octubre del 2018]³⁰.

d. Síntesis

Los taninos hidrolizables se producen por una derivación de la vía del ácido shikímico que conduce a la producción de ácido gálico (unidad monomérica fundamental), los florotaninos derivan por la vía de la malonil CoA que produce el bloque de construcción floroglucinol; mientras los taninos condensados derivan por biosíntesis mixta de las dos rutas anteriores que producen flavan - 3,4 - dioles (unidades monoméricas) que luego polimerizan por condensación³¹.

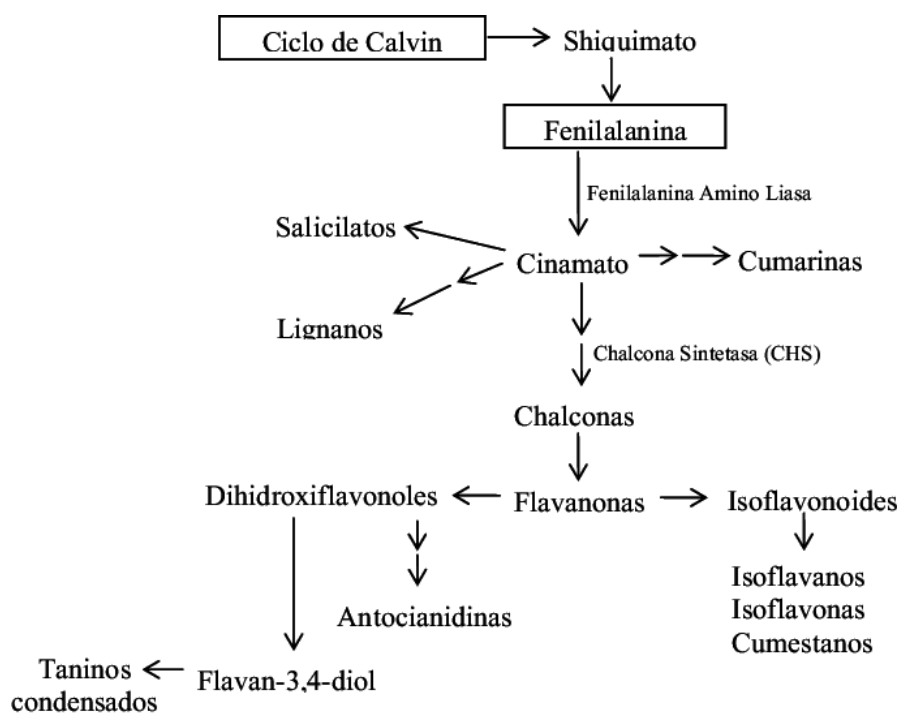


Figura 15: Síntesis de los taninos

Fuente: Leyva E, Navarro G, Loredo S, Santos M. Ruta de síntesis de Fenilpropanoides In: fitoesteroides Byabdfy, ed. Research Gate 2011³².

e. Acción farmacológica

Las acciones farmacológicas de los taninos podemos destacar sus propiedades astringentes, tanto por vía interna como tópica, hemostáticas, antisépticas y tonificantes. Así tenemos las siguientes propiedades medicinales³³:

- Para coagular las proteínas de los tejidos y mucosas.
- Crea una capa aislante y protectora que calma la irritación y el dolor sobre la piel.
- Detener pequeñas hemorragias locales.
- Inflamaciones bucales.
- Bronquitis.
- Quemaduras.
- Escaras en piel, heridas.
- Se utilizan para contener las diarreas.
- Antioxidantes.
- Previenen la aparición de enfermedades degenerativas (cáncer) y cardiovasculares.
- También tiene acciones como: antitumorales, antibacterianas, antivirales e inhibidores de enzimas, agentes hepatoprotectores, inhibición de peroxidación lipídica, vasodilatación dependiente de óxido nítrico, entre otros³⁴.

f. Método de cuantificación

- Método del tungsto – molíbdico - fosfórico

Este método se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin (tungsto - fosfomolíbdico; carbonato de sodio al 20%), el cual produce un complejo de color azul, cuya extinción es medida a 700 nm, determinando el contenido total de fenoles. Posteriormente se utiliza una solución de gelatina al 25 % para garantizar el secuestro de los taninos, obteniéndose de la diferencia de ambas determinaciones el porcentaje de taninos reportados como ácido tánico²².

2.2.8. Polisacáridos

Polímeros de alto peso molecular formados por unidades monosacáridicas.

a. Características

- Las pectinas son galacturonanos substituidos muy complejos¹³.
- La estructura básica de la cadena lineal ácida representa el núcleo de las pectinas, así como la de las pectinas con metilación variable²⁷.
- Se utilizan tres plantas ricas en inulina, el agave (*Agave azul tequilana*), la aguaturma (*Helianthus tuberosus*) y la achicoria (*Cichorium intybus*). El agave se utiliza para la fabricación de tequila

mediante fermentación del jugo de agave por la levadura *Kluyveromyces marxianus* que se encuentra de manera natural en la superficie de la planta. La achicoria es la fuente más utilizada para la obtención de inulina²⁷.

- Los oligosacáridos no se hidrolizan ni en el estómago ni en el intestino delgado, por lo que al igual que las inulinas, gomas y mucílagos, llegan intactos al intestino grueso en donde son fermentados por la flora intestinal²⁷.

b. Estructura química

Las pectinas están constituidas por una cadena lineal de ácido D-poligalacturónico con uniones α (1 - 4) con ramificaciones de azúcares de distinto tipo²⁷.

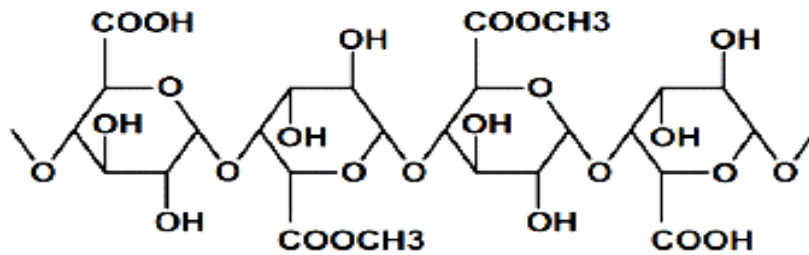


Figura 16: Estructura básica de las pectinas

Fuente: Zegada V. Extracción de pectina de residuos de cáscara de naranja por hidrólisis ácida asistida por microondas. Rev. Scielo. [Revista en Internet]. 2015; 1 (15): 65 – 73⁵.

La inulina de achicoria está formada por dos tipos de estructuras, mezcladas, denominadas GpyFn y FpyFn.

GpyFn: α - D - glucopiranosil - [β - D - fructofuranosil] $n - 1$ - D - fructofuranosido

FpyFn: (β - D - fructopyranosil - [α - D - fructofuranosil] $n - 1$ - D - fructofuranosido. El número de unidades de fructosa va desde 2 a más de 70²⁷.

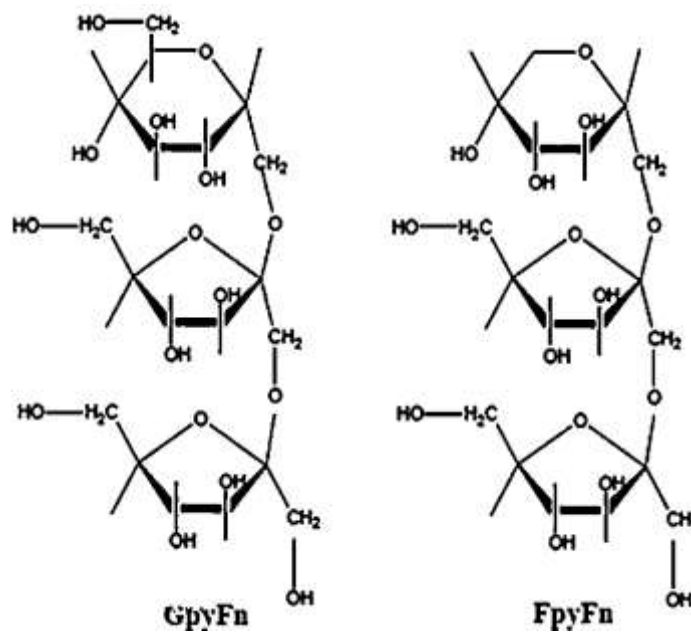


Figura 17: Estructura básica de la inulina

Fuente: Girbés T, Jimenez P. Avances en Medicina: nuevas terapias contra algunos tumores. Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía. 2008; 45: 261 – 749²⁷.

Los fructooligosacáridos más habituales en los alimentos son kestosa (GF2), nistosa (GF3) y fructosil - nistosa (GF4).

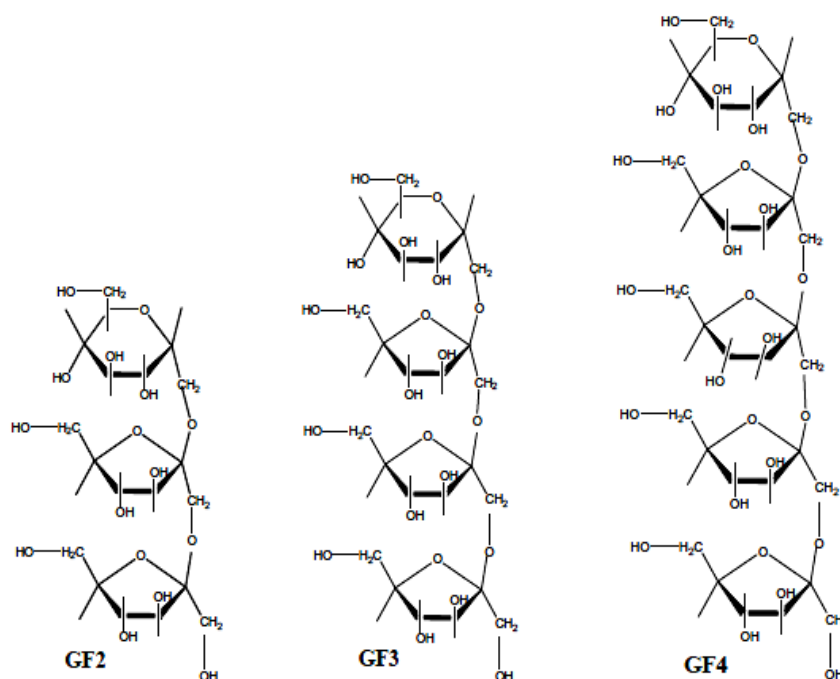


Figura 18: Estructura básica de los fructooligosacáridos

Fuente: Girbés T, Jimenez P. Avances en Medicina: nuevas terapias contra algunos tumores. Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía. 2008; 45: 261-749²⁷.

Los galactooligosacáridos (GOS) son carbohidratos formados por unidades de galactosa formados a partir de lactosa, por lo que tienen una glucosa terminal. El proceso consiste en la transferencia de unidades de galactosa a una unidad de lactosa [β - D - Gal (1 - 4) - α - D - glu] con lo que se obtiene el galactooligosacárido [α - D - Glu (1 - 4) - ((β - DGal (1 - 6) -) n], siendo $n = 2 - 5$ ²⁷.

La enzima responsable de esta transferencia es la β - galactosidasa denominada también lactasa. Estos productos se encuentran en la leche pero se puede preparar fácilmente mediante la incubación de la lactosa con el enzima²⁷.



Figura 19: Estructura básica de los galactooligosacáridos

Fuente: Girbés T, Jimenez P. Avances en Medicina: nuevas terapias contra algunos tumores. Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía. 2008; 45: 261-74²⁷.

c. Clasificación

- Por características estructurales

- Pectinas

Están presentes en las paredes celulares de todas las plantas.

Actualmente para su comercialización se están utilizados las pieles de naranjas, limones y manzanas por su riqueza en pectinas y disponibilidad y por ser subproductos en la fabricación de zumos.

La extracción se realiza en caliente y con soluciones ácidas²⁷.

- Inulinas

Las inulinas o fructanos tipo inulina son carbohidratos polidispersos de unidades de fructosa unidas por enlaces β (2-1) de origen vegetal²⁷.

- Fructooligosacáridos y galactooligosacáridos

Los fructooligosacáridos (FOS) son carbohidratos formados por unidades de fructosa en número variable (de 3 a 5) unidas a una unidad de glucosa terminal, que se encuentran en los vegetales y que pueden aparecer en procesos de degradación industrial²⁷.

- Hemicelulosa

Mezcla de polímeros químicamente heterogéneos Representan 15-35% de la biomasa vegetal Las más abundantes son xilanos, glucomananos y galactoglucomananos (paredes celulares secundarias)²⁷.

- Por su composición

- Homopolisacáridos

Tienen un tipo de monosacáridos, tenemos: Glucano (almidón, glicógeno, celulosa), Fructano (inulina), Galacturonano²⁷.

- Heteropolisacáridos

Tienen más de un tipo de monosacáridos, tenemos: Xiloglucano, Arabinoxilano, Galactomanano²⁷.

d. Síntesis

Las pectinas son sintetizadas en el cis - Golgi, posteriormente son metilesterificadas en su carboxilo C-6 en el Golgi medio por las pectin metiltransferasas (PMT) y modificadas por la adición de cadenas laterales al esqueleto en el trans Golgi, dando lugar a RGI, RGII y xilogalacturonanos³⁴.

Las inulinas se sintetizan de manera natural y artificial a partir de unidades de sacarosa con donadores de fructosa mediante las enzimas sacarosa-sacarosa fructosil-transferasa²⁷.

La síntesis de los polisacáridos se da por la unión de las moléculas de glucógeno hasta formar el almidón²⁷.

e. Acción farmacológica

- Las pectinas poseen diversos efectos en la ingestión de los alimentos. Unos son por la naturaleza polisacárida polihidroxilada que les permite retener grandes cantidades de agua y además de otras sustancias, en particular tóxicos y metales²⁷.

- Las pectinas reducen la velocidad de digestión en el estómago y en el intestino delgado al inmovilizar nutrientes por adsorción con lo que reducen también la velocidad de la absorción de los productos de la digestión por la mucosa intestinal²⁷.
- La ingestión de oligosacáridos, al promover la reducción del pH por la incrementan fermentación la absorción de dos minerales esenciales como son el calcio y el hierro²⁷.

f. Técnica para su identificación y cuantificación

Los azúcares reductores poseen un grupo carbonilo libre formando un grupo hemiacetal que le confiere la característica de poder reaccionar con otros compuestos. A través del método de Miller o DNS (ácido dinitrosalicílico) como reactivo tiene la capacidad de oxidar los azúcares reductores mostrando un comportamiento diferencial hacia mono y disacáridos, dando resultados colorimétricos que se puede medir con una longitud de onda de 575 nm.

Su fundamento es a través de la disolución alcalina el azúcar, se hidroliza produciendo un compuesto que se reduce a un grupo nitro del DNS, para dar el producto monoamino correspondiente. Esta reacción da un producto colorido en solución alcalina³⁶.

III. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra

3.1.1. Unidad de análisis

Flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, procedente del distrito de San Marcos, provincia de San Marcos, Región Cajamarca.

3.1.2. Universo

Constituido por todas las plantas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”.

3.1.3. Muestra

- Muestra Vegetal

Se utilizó 5 kg de flores y 5 kg de hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, procedentes del distrito de San Marcos, provincia de San Marcos, región de Cajamarca, para obtener extracto acuoso al 20% en cada muestra.

La muestra se recolectó durante los meses de setiembre a noviembre, en horas de la mañana (antes del medio día).

Para la selección de la muestra, se tuvo en cuenta los siguientes criterios:

- a. **Criterio de inclusión:** se seleccionaron flores y hojas libres de enfermedades, exentas de microorganismos y en buenas condiciones.
- b. **Criterio de exclusión:** flores y hojas con presencia de enfermedades, con microorganismos, y maltratadas.

3.2. Método de investigación

3.2.1. De acuerdo al fin que se persigue

Básica, ya que estuvo encaminada a ampliar el conocimiento científico, explorando más y nuevas teorías para transformar las ya existentes.

3.2.2. De acuerdo al diseño de contrastación

Experimental, porque buscó identificar y cuantificar los principales metabolitos para aprovechar sus propiedades medicinales manipulando las variables independientes.

Nivel Exploratorio, porque buscó demostrar sus propiedades y beneficios en la medicina tradicional.

3.3. Técnicas de investigación

3.3.1. Obtención y preparación de la muestra vegetal

- Recolección y selección de la muestra vegetal:

Las flores y hojas verdes se recolectaron directamente de la planta dentro del valle de Cajamarca, y se colocaron en un recipiente de madera, luego se seleccionaron las flores y hojas que no estuvieron maltratadas.

Se recolectaron aproximadamente 5 kg de las flores y 5 kg de hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, luego se acomodaron en recipientes no sintéticos y rotulados, los que fueron trasladados hacia el laboratorio en condiciones frescas sin exponerlos directamente al sol.

Una vez en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, se procedió a la limpieza y selección de las flores y hojas verdes según los criterios de inclusión.

- **Limpieza de la muestra:**

Las flores y hojas verdes se sometieron a un procedimiento de limpieza, utilizando hipoclorito de sodio al 0,5% extraído de un producto comercial llamado “Clorex” (cuya concentración es de 4%). Para obtener dicha solución, se utilizó la siguiente fórmula:

$$V1 = (V2 * C2) / C1$$

$$V1 = (1000 \text{ mL} * 0,5\%) / 4\%$$

$$V1 = 125 \text{ mL}$$

Donde:

V1 = Volumen del producto Clorex

V2 = Volumen a utilizar para la nueva solución

C1 = Concentración del V1

C2 = Concentración del V2

Por lo tanto, se necesitó 125 mL de hipoclorito de sodio del producto comercial al 4% para la solución respectiva. Y de agua destilada se necesitó c.s.p. 1000 mL.

- **Secado**

Para el secado se colocó bajo sombra y extendidas sobre el papel Kraft, aproximadamente por 15 días.

- **Pulverización de la muestra**

Las hojas y flores de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” fueron trituradas en partes pequeñas hasta hacerse polvo.

Para realizar la pulverización se utilizó dos morteros, que a través del pilón se forzaron mecánicamente sobre las hojas y flores (por separado) hasta obtener polvo grueso con partículas entre 355 - 1000 μ M. Esto permitió ser más polar con el agua durante la extracción acuosa.

3.3.2. Preparación y obtención del extracto:

Este procedimiento se realizó por separado:

Se pesó 100 g de polvo de las flores de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, luego se le agregó 500 mL de agua destilada a 70°C, dejándose dos horas a baño maría, después de lo cual se filtró tres veces hasta obtener un extracto purificado.

Se pesó 100 g de polvo de las hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, luego se le agregó 500 mL de agua destilada a 70°C, dejándose dos horas a baño maría, después de lo cual se filtró tres veces hasta obtener un extracto purificado.

Para calcular la concentración de las muestras se tomó 1 mL de cada muestra, se colocó en luna de reloj y se llevó a sequedad para mediante cálculos determinar la cantidad de muestra seca por cada mL de extracto.

3.3.3. Identificación de metabolitos secundarios para las flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Una vez obtenidos los extractos acuosos de las flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” se procedió a realizar la identificación de los metabolitos secundarios: flavonoides totales, taninos (condensados e hidrolizables), y polisacáridos.

3.3.3.1. Determinación de flavonoides

Para las flores y hojas por separado, se utilizó la reacción de cianidina o shivata, para lo cual, se colocó en un tubo de ensayo 3 mL del extracto acuoso de las flores y 3 mL del extracto acuoso de las hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, luego se agregó 5 mL de ácido clorhídrico (37%) a cada muestra, y por último se agregó trozos de cinta de magnesio a cada uno. La reacción identificó flavonoides por el cambio de color; la presencia de color anaranjada - rojiza, indicó positivo.

3.3.3.2. Determinación de taninos

Para las flores y hojas se utilizó la reacción de cloruro férrico al 1% por separado, se colocó 3 mL del extracto acuoso de las flores y 3 mL del extracto acuoso de las hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, luego se agregó 3 gotas de solución de cloruro férrico 1% a cada muestra. La reacción identificó taninos por el cambio de color, la presencia de color verde identificó taninos catéquicos, y el azul para taninos gálicos.

3.3.3.3. Determinación de polisacáridos

La solución de yodo - diyodo disuelto en una solución acuosa de yoduro de potasio al reaccionar con el almidón produjo un color violeta. Para las flores y hojas se utilizó la reacción de Lugol. Se colocó por separado 3 mL del extracto acuoso de las flores y 3 mL del extracto acuoso de las hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, se colocó de 2 a 3 gotas de Lugol (disolución de yodo y yoduro potásico). La reacción identificó polisacáridos por el cambio de color, el azul - violeta indicó la presencia de polisacáridos.

3.3.4. Cuantificación de metabolitos secundarios

3.3.4.1. Flavonoides

Con el método espectrofotométrico para cuantificar flavonoides totales:⁷

Se reflujo 0,5 g de muestra del extracto acuoso 2 h con 20 mL de ácido sulfúrico al 10 % y 20 mL de etanol al 50 %, luego se enfrió y se filtró con ayuda de vacío. El residuo se lavó con 30 mL de etanol al 50 % para desecharlo finalmente; el filtrado se evaporó en baño de agua hasta la mitad del volumen inicial, se enfrió sobre baño de hielo durante 30 min y luego se filtró, lavando el precipitado formado con 4 porciones de 10 mL de agua destilada fría (10 a 15 °C). Se eliminó el filtrado y los lavados, y el residuo tanto del filtro como del recipiente se disolvió con 70 mL de etanol al 96 %,

calentando previamente a 50 °C; la solución se pasó a un volumétrico de 100 mL y se completó volumen con etanol al 96 % (solución muestra). Posteriormente se leyeron las absorbancias a 258 nm empleando como patrón 0,04 g de quercetina, los cuales se disolvieron con etanol al 96 % hasta completar un volumen de 50 mL; de esta solución se tomó 1 mL y se diluyó a 100 mL con etanol al 50 %. El blanco consistió en una solución de etanol al 50 %.

La expresión empleada para el cálculo fue la siguiente:

$$X = \frac{A_m \times PR \times 5}{A_R} \times 100$$

Donde:

X = Contenido de flavonoides totales expresados como quercetina (%)

A_m = Absorbancia de la solución muestra (nm)

PR = Peso de la sustancia de referencia (g)

A_R = Absorbancia de la solución de referencia (nm)

3.3.4.2. Taninos

Con el método del tungsto – molíbdico – fosfórico²².

Se agitó 10 g de muestra con 500 mL de etanol al 50 % durante 6 h, se dejó en reposo 8 h y se agitó nuevamente por 30 min, para

posteriormente se filtró. Se transfirieron 3 mL del filtrado a un matraz aforado de 50 mL y se diluyó con agua destilada hasta enrase.

Fundamento: en este método, los taninos reaccionan con el reactivo de tungsto – molíbdico - fosfórico (Folin Ciocalteu) a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de una determinación espectrofotométrica a 700 nm. Para la cuantificación de los taninos, se utiliza una solución de gelatina al 10% para garantizar el secuestro de los taninos. El porcentaje de taninos se determina por la diferencia de los valores de la cuantificación de los fenoles, a las soluciones antes y después de la reacción con la gelatina, cuya absorbancia es referida al ácido tánico y leídas a 700 nm.

Preparación de la solución patrón:

- a) Soluciones patrones de ácido gálico y/o tánico: Se preparan una serie de soluciones patrones con concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L, usando la siguiente tabla:

Tabla 1: Preparación de las soluciones patrón para taninos

Patrones	Volumen de la solución de 50 mg/L de ácido gálico/tánico (mL)	Volumen de agua destilada (mL)	Concentración mg/L
1	2	8	10
2	4	6	20
3	6	4	30
4	8	2	40
5	10	0	50

Fuente: Gutiérrez Y, Miranda M, Varona N, Tania A. Validación de 2 métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) en *Psidium guajaba*. Rev. Cubana de Farmacia. [Revista en Internet]. 2000; 50 – 5²².

Preparación del complejo coloreado a partir de las soluciones patrones para la lectura espectrofotométrica 760 nm.

Tabla 2: Preparación del complejo coloreado

Concentraciones Patrones (mg/L)	Vol. solución patrón (mL)	Reactivo para taninos(mL)	Solución de Na ₂ CO ₃ al 5%	Vol. final (mL)
10	2,0	1,0	0,5	10
20	2,0	1,0	0,5	10
30	2,0	1,0	0,5	10
40	2,0	1,0	0,5	10
50	2,0	1,0	0,5	10

Fuente: Gutiérrez Y, Miranda M, Varona N, Tania A. Validación de 2 métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) en *Psidium guajaba*. Rev. Cubana de Farmacia. [Revista en Internet]. 2000; 50 – 5²².

Finalmente se preparó matraces aforados de 50 mL, los cuales contuvieron:

Tabla 3: Preparación de las soluciones para taninos

Reactivo	Blanco	Patrón	Muestra
Solución muestra (Sm)	-	-	1,0 mL
Solución de referencia de ácido tánico	-	3,0 mL	-
Agua destilada	5,0 mL	2,0 mL	4,0 mL
Reactivo para taninos	2,0 mL	2,0 mL	2,0 mL

Se agita y se deja en reposo 5 minutos

Solución de carbonato de sodio al 20%	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
---------------------------------------	--------	--------	--------

Fuente: Gutiérrez Y, Miranda M, Varona N, Tania A. Validación de 2 métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) en *Psidium guajaba*, L. Revista Cubana de Farmacia. 2000: 50 – 5²².

Se completó con agua destilada hasta enrase, se mezcló bien y se leyó cada uno a 700 nm.

Solución de referencia de ácido tánico: se disolvieron 25 mg de ácido tánico en 100 mL de agua destilada, de ahí se cogieron 20 mL y se completó volumen hasta 100 mL.

Reactivo para taninos: 10 g de tungstato de sodio dihidratado, 0,2 g de ácido fosfomolibdico y 5 mL de ácido fosfórico al 85 % en 75 mL de agua destilada. Se reflujo 2 h y después se completó a 100 mL con agua destilada.

La expresión para los cálculos es la siguiente:

$$X = \frac{A_m \times P \times 1000 \times 100}{A_p \times PM \times (100 - p)}$$

Donde:

X = Contenido de taninos en la droga (%)

P = Masa de la sustancia de referencia (g)

A_m = Absorbancia de la muestra (nm)

A_p = Absorbancia de la solución de referencia (nm)

PM = Masa de la droga (g)

p = Humedad de la droga (%)

3.3.4.3. Polisacáridos

- Identificación de los polisacáridos:

Se realizaron extracciones al material vegetal con alcohol etílico (para eliminar los compuestos fenólicos) y posteriormente los polisacáridos fueron extraídos con agua a ebullición hasta por 3

veces. Los extractos acuosos fueron concentrados hasta obtener residuos de aspecto ligeramente espeso y los polisacáridos se precipitaron por adición de etanol (5 volúmenes) y separados mediante centrifugación³⁷.

- **Cuantificación de polisacáridos. Método de Miller**

En este método se utilizó el DNS (ácido 3,5 - dinitrosalicílico) con la implementación de una curva patrón, cuyo fundamento es la capacidad de oxidar los azúcares reductores, mostrando un comportamiento diferencial hacia mono y disacáridos, dando resultados colorimétricos que se pudo medir con una longitud de onda de 575 nm.

- **Preparación del reactivo DNS**

Se añadió 10 g de ácido dinitrosalicílico (DNS) y 300 g de tartrato de sodio y potasio (sal de Rochelle) a 800 mL de NaOH 0,5 N, luego se calentó suavemente hasta disolver los reactivos. El volumen se completó hasta 1,0 L con agua destilada.

- **Preparación de la curva patrón**

Se procedió a determinar las diferentes concentraciones de glucosa partiendo de 0,01 % que indica 0,1 gramos en 1000 mL de agua. Posteriormente se tomó alícuotas de 0,1; 0,2; 0,3 y se completó a volumen para 1,0 mL con agua destilada.

Por último, se añadió el DNS, para ser leídas en el espectrofotómetro.

Tabla 4: Preparación de las soluciones patrones para elaborar una curva patrón

N° de Tubos	Patrón de Glucosa (0,1 g/1000 mL)	Agua 1 mL	DNS 1 mL	Concentración mg/mL	Absorbancia
1	0,2	0,8	0,5	200	0,062 nm
2	0,4	6	0,5	400	0,078 nm
3	0,6	4	0,5	600	0,120 nm
4	0,8	2	0,5	800	0,161 nm
5	1,0	0	0,5	1000	0,248 nm

Fuente: Cristancho L, Monroy R. Manual de métodos generales para determinación de carbohidratos. Primera ed. Colombia 2014. 31 p³⁶.

- Preparación de la muestra

Se tomó 1 mL de la solución acuosa de la muestra, enseguida se adicionó 1mL del reactivo de DNS y se calentó por 15 minutos en baño maría. Se dejó enfriar para luego diluirlo con 10 mL de agua destilada. Por último, se procedió a leer la absorbancia junto con el blanco a la misma longitud de onda que las muestras para la curva patrón. Para obtener el resultado se graficó la concentración en ppm de la glucosa vs absorbancia de las muestras diluidas a diferentes concentraciones.

3.3.5. Recopilación y evaluación de estudios de las propiedades medicinales de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Los estudios e investigaciones de las propiedades medicinales de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” fueron recopilados de buscadores de base de datos y páginas de journal en internet, entre ellas: Elsevier, Scopus, Redalyc, Dialnet, Janium. Cuyas citas bibliográficas amplió y reforzó esta investigación, además aclaró la discusión de este trabajo.

Esta información base contribuye como guía, sistematiza y organiza la investigación para dar una explicación sobre las propiedades medicinales de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” y el uso que de ella hace la población. El estudio fitoquímico de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” es importante ya que mediante él, es posible la identificación de los metabolitos responsables de su acción terapéutica mediante métodos de extracción. El interés por determinar la presencia de flavonoides, taninos y polisacáridos, contribuye a ampliar la información de sus propiedades medicinales, ya que actualmente es insuficiente los estudios de ensayos clínicos de las bondades que presenta esta especie vegetal.

3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos

3.4.1. Instrumentos

Ficha de recolección de datos.

Software Microsoft Excel.

3.4.2. Equipos

- Agitador magnético (IKA RCT)

- Balanza analítica (OHAUS)
- Baño maría (MEMMERT)
- Bomba de vacío de membrana (VACUUBRAND).
- Cocina eléctrica (TELESONIC)
- Espectrofotómetro (TERMO SPECTRONIC)
- Estufa (MEMMERT)
- Refrigeradora (COLDEX)

3.4.3. Material

- Materiales de vidrio y otros de uso común en el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica.

3.4.4. Reactivos y fármacos

- Cianidina
- Cloruro férrico al 1%
- Lugol 5%
- Carbonato de sodio al 20%
- Ácido tánico al 5%
- Ácido clorhídrico 0,5%
- Ácido sulfúrico al 10%
- Ácido fosfomolibdico
- Ácido fosfórico
- Ácido 3,5 - dinitrosalicílico (DNS)
- Etano al 50%
- Trozos de cintas de magnesio
- Quercetina

- Tungstato de sodio dihidratado
- Tartrato de sodio
- Tartrato de potasio (Sal de Rochelle)
- Hidróxido de sodio 0,5N

3.5. Técnicas de análisis de datos

El análisis de datos se realizó en una matriz, mediante comparación de tablas, gráficos o cuadros informativos utilizando el programa Excel.

3.6. Aspectos éticos de la investigación

Se tuvo en cuenta el cuidado del ambiente, y destreza en la recolección de la muestra vegetal necesarios para no afectar el hábitat natural de la especie *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, en concordancia con el inciso 3.1, 3.2 del artículo 3° de la Ley N° 27308, Ley Forestal y de Fauna Silvestre (Norma actualizada al 03 de agosto del 2010), cuyo contenido dice: “Inciso 3.1. El Estado promueve el manejo de los recursos forestales y de fauna silvestre en el territorio nacional, como elemento fundamental para garantizar su desarrollo sostenible, con la activa participación de los sectores sociales y económicos del país”, “Inciso 3.2. El Estado fomenta la conciencia nacional sobre el manejo responsable de las cuencas, bosques y fauna silvestre y realiza acciones de prevención y recuperación ambiental”. La Ley tiene por objeto normar, regular y supervisar el uso sostenible y la conservación de los recursos forestales y de fauna silvestre del país, compatibilizando su aprovechamiento con la

valorización progresiva de los servicios ambientales del bosque, en armonía con el interés social, económico y ambiental de la Nación.

IV. RESULTADOS

Tabla 5: Identificación de metabolitos en flores de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

	Flavonoides	Taninos	Polisacáridos
Extracto acuoso de flores	++	++++	-

Fuente: Resultados obtenidos en el laboratorio.

Leyenda:

Muy intenso	++++	(Color anaranjado – rojizo)
Intenso	+++	(Color rojizo)
Regular	++	(Color anaranjado)
Poco intenso	+	(Color anaranjado claro)
Ausente	-	(sin color anaranjado – rojizo)

Interpretación: Se observa el resultado de la identificación de flavonoides, taninos y polisacáridos en flores de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”. Teniendo mayor intensidad de color para taninos, seguidos de los flavonoides, y finalmente están los polisacáridos. El número de cruces indica referencialmente su presencia.

Tabla 6: Identificación de metabolitos en hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

	Flavonoides	Taninos	Polisacáridos
Extracto acuoso de hojas	++++	+++	-

Fuente: Resultados obtenidos en el laboratorio.

Leyenda:

Muy intenso	++++	(Color anaranjado – rojizo)
Intenso	+++	(Color rojizo)
Regular	++	(Color anaranjado)
Poco intenso	+	(Color anaranjado claro)
Ausente	-	(sin color anaranjado – rojizo)

Interpretación: Se observa el resultado de la identificación de flavonoides, taninos y polisacáridos en hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”. Teniendo mayor intensidad de color para flavonoides, le sigue los taninos, y finalmente están los polisacáridos. El número de cruces indica referencialmente su presencia.

Tabla 7: Concentración de flavonoides en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Flavonoides totales (Expresados en porcentaje de Quercetina)		
	Absorbancia	Concentración (%)
Flores	1,447	2,64
Hojas	0,901	4,24

Fuente: Resultados obtenidos en el laboratorio.

Interpretación: La tabla 7 muestra la concentración de flavonoides totales (expresados en porcentaje de Quercetina) en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”; teniendo las hojas en mayor concentración.

Tabla 8: Absorbancia y concentración de flavonoides en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Flavonoides Totales				
(Expresados en porcentaje de Quercetina)				
Absorbancia				
	Blanco	Patrón	Muestra	Concentración de la muestra (%)
Flores	1,241	1,707	1,447	2,64
Hojas	1,241	1,707	0,901	4,24

Fuente: Resultados obtenidos en el laboratorio.

Interpretación: Se observa la absorbancia y concentración de flavonoides totales (expresados en porcentaje de Quercetina) en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”; teniendo las hojas mayores porcentajes.

Tabla 9: Concentración de taninos en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Taninos		
	Absorbancia	Concentración %
Flores	0,065	1,80
Hojas	0,054	1,51

Fuente: Resultados obtenidos en el laboratorio.

Interpretación: Se observa la concentración de taninos en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”; teniendo las flores mayor concentración.

Tabla 10: Absorbancia y concentración de taninos en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Taninos Totales				
Absorbancia				
	Blanco	Patrón	Muestra	Concentración de la muestra (%)
Flores	0,050	0,190	0,065	1,80
Hojas	0,041	0,192	0,054	1,51

Fuente: Resultados obtenidos en el laboratorio.

Interpretación: Se observa la absorbancia con sus respectivas concentraciones de taninos totales en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”; teniendo las flores mayores porcentajes.

Tabla 11: Concentración de polisacáridos en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Polisacáridos		
	Absorbancia	Concentración %
Flores	0,357	0,1645
Hojas	0,363	0,1675

Fuente: Resultados obtenidos en el laboratorio.

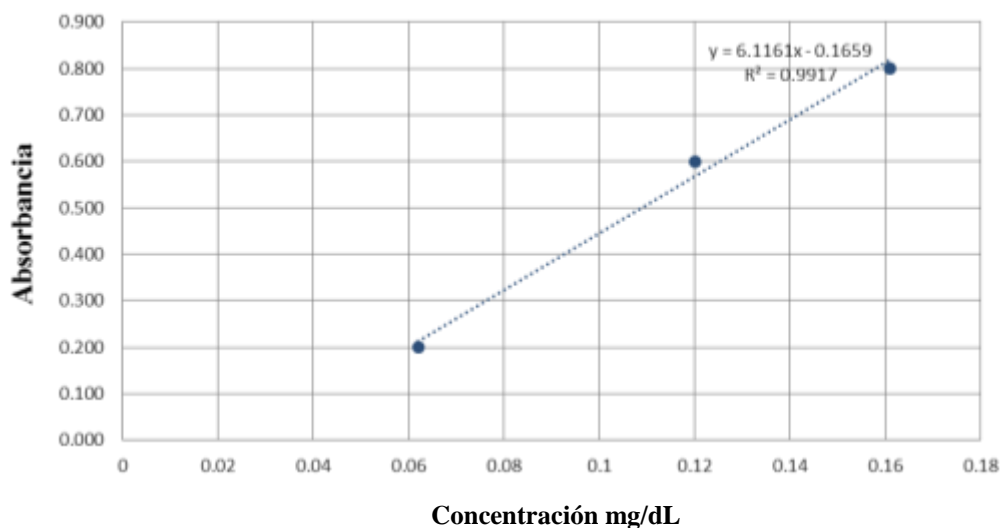
Interpretación: Se observa la absorbancia con sus respectivas concentraciones de polisacáridos en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”; teniendo las hojas mayores porcentajes.

Tabla 12: Absorbancia y concentración de polisacáridos en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Polisacáridos Totales				
Absorbancia				
	Blanco	Patrón	Muestra	Concentración de la muestra (%)
Flores	0,0	0,004	0,357	0,1645
Hojas	0,0	0,004	0,363	0,1675

Fuente: Resultados obtenidos en el laboratorio.

Interpretación: Se observa la absorbancia con sus respectivas concentraciones de polisacáridos totales en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”; teniendo las hojas ligeramente mayores porcentajes.



Fuente: Resultados obtenidos en el laboratorio.

Figura 20: Curva patrón para la cuantificación de polisacáridos en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

Interpretación: Se observa la regresión lineal de la curva patrón de polisacáridos en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”, existiendo una relación directa de la concentración de polisacáridos, es decir, a mayor absorbancia se tiene mayor concentración. La curva patrón alcanzó un valor de R^2 de 0,9917, esto representa el porcentaje de la varianza justificado por la variable independiente.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad comparar los principales metabolitos activos presentes en flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales, trabajándose con 100 g de polvo de hojas y 100 g de polvo de flores. En la tabla 5 se muestran los resultados de la identificación de metabolitos en flores, observándose poca presencia de flavonoides y taninos, y nulo de polisacáridos; resultados similares a los obtenidos por Joong K et al (1995), quien determinó poco contenido de flavonoides en flores. Mientras que en la tabla 6, la identificación de metabolitos en hojas arroja presencia importante de flavonoides y taninos con ausencia de polisacáridos; esto puede ser corroborado con Nigel C et al (2009), que durante su investigación para la caracterización de flavonas y otros metabolitos de las hojas de robinias, menciona haber encontrado en altas cantidades de flavonoides en hojas y flores. Es innegable la importancia de los flavonoides y taninos vegetales que han logrado a través del tiempo la utilización en diversas dolencias del ser humano, y conforme se ha ahondado su conocimiento y encontrado aplicaciones múltiples de sus propiedades medicinales se está logrando utilizarlo progresivamente para rescatar la medicina tradicional³.

Con respecto a la identificación de flavonoides, la coloración rojo intenso indica presencia de éstos mediante la reacción shivata. La tabla 5 muestra poco contenido en flores, mientras que en la tabla 4 se evidencia alto contenido en hojas; este resultado concuerda con lo mencionado por Nigel C et al (2009), quienes realizaron

una comparación de contenidos de flavonoides mostrando que predominaba más en hojas que en flores.⁵ La cuantificación de flavonoides, de acuerdo a la tabla 5, se evidencia una importante concentración en flores y hojas, siendo estas últimas las que contienen mayor porcentaje; siendo de vital importancia para su uso en medicina natural. Los flavonoides tienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos con excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante y antibiótica. Lo cual indica que las hojas pueden ser una alternativa inhibitoria de agente antimicrobianos, tal como lo demuestra Sarikurkcü C et al (2015), cuyo estudio marcó actividad antioxidante e inhibitoria de las flores de robinias en ciertos crecimientos poblaciones de cultivos bacterianos. Esto puede deberse a que tienen funciones inmunoestimulantes, disminuyendo de manera significativa los niveles de interleucinas 6 y 8 y del factor de necrosis tumoral, incrementando la síntesis de interleucina 2 como lo demuestra Yang S et al (2017), en su investigación con conejos administrados con extracto de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” contra el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo.⁷ Por otro lado, Sarikurkcü C et al (2015), al evaluar el contenido de flavonoides encontró altas cantidades en hojas, lo que concuerda con el presente estudio; sin embargo, no sucedió con el contenido de taninos siendo lo contrario⁶.

En tanto, la concentración de taninos de acuerdo a la tabla 9, indica menor proporción tanto en hojas como en flores, en comparación con los flavonoides. Al identificarse el contenido de taninos basado en un modelo patrón positivo de comparación establecidos, es validada por estudios de la presencia de estos

metabolitos, tal como ha sido investigado por Nigel C et al (2009), quien identificó taninos y flavonoides a partir de extractos de hojas de robinias⁵. Los taninos son compuestos químicos complejos resultantes de la combinación de fenoles y azúcares, tienen masas moleculares relativamente elevadas, capaces de precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa, gelatina), son también agentes quelantes; se oxidan con facilidad, sobre todo en medio ácido, y pueden actuar como reductores de ciertos compuestos. Los taninos se disuelven en agua formando disoluciones coloidales, son solubles en alcoholes y en acetona¹⁴. Tienen actividad anticancerígena, probándose en tumores de próstata y pulmón; muchos estudios indican que los taninos de las acacias tienen actividad antitumoral contra sarcomas.²⁴ El tanino se distingue por una reacción cromática, con una solución $FeCl_3$, que al exponerse a la luz se colorea rápidamente al azul con precipitado negruzco. Estas características son de plantas con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias procedentes de las semillas de robinias, con efectos protectores en enfermedades ulcerosas, tal como lo explica Talas T et al (2005)⁴, los taninos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, encontrándose mayormente en las hojas, tallos y frutos, cuya función es proteger la especie vegetal de heridas que sufren y así evitar el ingreso de microorganismos que puedan causarles daño”, según lo dicho, la acción cicatrizante que posee la especie vegetal en estudio esta proporcionada por la presencia de estos taninos³.

Por otro lado, en esta investigación, se ha observado mínimas cantidades de concentración de polisacáridos, tal como se aprecia en la tabla 11, encontrándose 0,1645 % y 0,1675% en flores y hojas, esto concuerda con la investigación de Yang S et al (2017), quien demostró polisacáridos en flores y hojas; las que se utilizaron

como inmuno estimulante en organismos eucarióticos con equivalentes libres de polisacáridos a 200 mg/mL.⁷ Mientras que los polisacáridos con cadenas lineales no se hidrolizan en el estómago ni en el intestino delgado, por lo que llegan intactos hasta el intestino grueso, en donde son fermentados por la flora bacteriana intestinal. Por lo que, las hojas y flores de esta especie en estudio se pueden utilizar en diversos efectos de la digestión, ya que reducen la velocidad funcional en el estómago e intestino durante la digestión de los alimentos²⁷. Los azúcares reductores poseen un grupo carbonilo libre formando un grupo hemiacetal que le confiere la característica de poder reaccionar con otros compuestos. A través del método de Miller o DNS (ácido dinitrosalicílico) como reactivo tiene la capacidad de oxidar los azúcares reductores mostrando un comportamiento diferencial hacia mono y disacáridos, dando resultados colorimétricos que se puede medir con una longitud de onda de 575 nm. Cuyo fundamento es a través de la disolución alcalina el azúcar, se hidroliza produciendo un compuesto que se reduce a un grupo nitro del DNS, para dar el producto monoamino correspondiente. Esta reacción da un producto colorido en solución alcalina³⁶.

Se deduce que los componentes encontrados en las hojas y flores de la robinia son suficientes para el tratamiento de muchas dolencias en los humanos, siendo una alternativa como antioxidante, antibacteriano, antitumoral, inmunoestimulante, astringente, antiinflamatorio, cicatrizante y digestivo.

El empleo de plantas medicinales y de productos derivados de las mismas está aumentando de manera importante desde hace muchos años. Esto se debe a una serie de factores, entre los cuales debemos destacar el conocimiento preciso de su composición química, y el hecho de que en la actualidad dicha utilización se

fundamenta en numerosos ensayos farmacológicos in vivo como in vitro, así como en ensayos químicos. De esta forma, el uso de las especies vegetales medicinales que se ha venido haciendo en forma empírica y basada en la tradición tiene hoy una base científica.

De acuerdo con los antecedentes y resultados observados se dice que los compuestos identificados y cuantificados de la *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” se encuentran en cantidades mayores en las hojas que en las flores. Por lo tanto, los resultados pueden justificar el aprovechamiento de propiedades medicinales.

VI. CONCLUSIONES

Los principales metabolitos activos están presentes tanto en hojas como en flores de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para aprovechar sus propiedades medicinales.

La identificación y cuantificación de flavonoides y taninos se encuentran en mayores concentraciones tanto en hojas como en flores. La cuantificación de flavonoides arrojó en 2,64 % para flores y 4,24 % para hojas. La cuantificación de taninos arrojó en 1,80 % para flores y 1,51 % para hojas.

La cuantificación de polisacáridos están presentes en *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” en concentraciones de 0,1645% para flores y 0,1675% para hojas.

VII. RECOMENDACIONES

Promover la investigación en especies vegetales para determinar sus propiedades farmacológicas en el tratamiento de afecciones en la salud.

Realizar estudios experimentales con animales de laboratorio para evaluar el efecto terapéutico por los flavonoides, taninos y polisacáridos.

Continuar con la búsqueda de más metabolitos secundarios con otros métodos específicos para enriquecer la investigación en la *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”.

Ampliar el estudio con *Robinia pseudoacacia* “flor blanca” para determinar dosis efectivas y dosis tóxica con el fin de utilizarlos en el control de enfermedades.

Ensayar la identificación y cuantificación de pectinas en lugar de polisacáridos generales.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Benedetti S, Delard C. *Robinia pseudoacacia*: una alternativa multipropósito para la zona central. [sede Web]. Santiago de Chile: Benedetti S, Delard C; 1999. [Citado el 28 de setiembre del 2018]. Disponible en: <http://biblioteca.infor.cl/DataFiles/15434.pdf>.
2. Monfort C. Validación y transferencia de métodos analíticos mediante espectroscopia NIR. [sede Web]. Barcelona: Monfort C; 2014. [Citado el 05 de agosto del 2018]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2014/136795/TFG_CristinaMonfortFraga.pdf
3. Joong K, Myung B, Young K. Chemical Composition of Acacia Flower (*Robinia pseudoacacia*). Korean Journal of Food Science and Technology. [Revista en Internet]. 1995; 27 (5): 789 - 93. [Citado el 28 de setiembre del 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/264135621_Chemical_Composition_of_Acacia_FlowerRobinia_pseudo-acacia
4. Talas - Ogras T, Ipekçi Z, Bajrović K, Gözükmizi. Antibacterial activity of seed proteins of *Robinia pseudoacacia*. Rev. Elsevier. [Revista en Internet] 2005. 76 (1): 67 - 72. [Citado el 02 de julio del 2018]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X04002412?via%3Dihub>

5. Nigel V, Peter E, Geoffrey K, Gwilym L. Flavonoid glycosides of the black locust tree, *Robinia pseudoacacia* (Leguminosae). Rev. Research Gate [Revista en Internet]. 2009; 71 (14): 479 - 86. [Citado el 19 de octubre del 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/40041485_Flavonoid_glycosides_of_the_black_locust_tree_Robinia_pseudoacacia_Leguminosae

6. Sarikurkcu C, SefaKocak M, Tepe B, Cemil M. An alternative antioxidative and enzyme inhibitory agent from Turkey: *Robinia pseudoacacia* L. Rev. Elsevier. [Revista en Internet]. 2015; 78: 110 - 5. [Citado el 05 de julio del 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/283334123_An_alternative_antioxidative_and_enzyme_inhibitory_agent_from_Turkey_Robinia_pseudoacacia_L

7. Yang S, Li G, Zhao Z, Feng M, Fu J, Huang Z, et al. The Taishan *Robinia pseudoacacia* polysaccharides enhance immune effects of rabbit haemorrhagic disease virus inactivated vaccines. Rev. Elsevier. [Revista en Internet]. 2017; 112: 70 - 5. [Citado el 21 de julio del 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S088240101730339X?via%3Dihub>

8. Swamy S, Puri S, Kanwar K. Propagación de *Robinia pseudoacacia*. Rev. Agroforestry Systems. [Revista en Internet] 2002; 3 (55): 231 - 7. [Citado el 16 de julio del 2018]. Disponible en: http://www.europe-aliens.org/pdf/Robinia_pseudoacacia.pdf
9. Sanz M, Dana E, Sobrino E. Atlas de las plantas alóctonas invasoras en España. [sede Web]. Madrid: Tragsa. Sanz et al.; 2004. 384 p. [Citado el 26 de octubre del 2018]. Disponible en: http://www.animalrecord.net/Atlas_Plantas_Aloctonas_Espana.pdf
10. Rice S, Westerman B, Federici R. Impacto de *Robinia pseudoacacia* en el ecosistema. Rev. Plant Ecology. [Revista en Internet]. 2004; 1 (174): 97 - 107. [Citado el 04 de setiembre del 2018]. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/131841/1/Integraci%C3%B3n%20impac%20ecol%C3%B3gicos%20plantas%20ex%C3%B3ticas%20invasoras,%20vazquez-de-aldana.pdf>
11. Villar Del Fresno A. Farmacognosia general. En: Villar Del Fresno, editores. 1a ed. Madrid: Síntesis; 1999: pp 78 - 81.
12. Mosquera W. Metabolitos primarios y secundarios de las plantas. [sede Web]. [s.l.]: Mosquera W; 2014. [Citado el 25 de agosto del 2018]. Disponible en: <https://prezi.com/hmj1ckp7xv1n/metabolitos-primarios-y-secundarios-de-las-plantas/>

13. Almaraz N, Ávila J, Delgado E, Naranjo N, Herrera J. El metabolismo secundario de las plantas. [sede Web]. [s.l.]: Almaraz et al.; 2006; 1 (2): 39 - 50. [Citado 10 de octubre del 2018]. Disponible en: <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/8292/1/METABOLISMO%20SECUNDARIO-ALMARAZ.pdf>.
14. Avalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de las plantas. [sede Web]. [s.l.]: Avalos A & Pérez E; 2009; 2 (3): 119 - 45. [Citado el 10 de octubre del 2018]. Disponible en: http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf.
15. Llorente B. Aislamiento, purificación, caracterización y producción in vitro de peptidasas de alcaucil coagulantes de la leche. Buenos Aires: Universidad Nacional de La Plata; 2002.
16. Martínez S, González J, Culebras M, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. [Revista en Internet]. 2002; 17 (6): 271 - 8. [Citado el 05 de octubre del 2018]. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
17. Pérez G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Rev. Scielo. [Revista en Internet]. 2003; 22 (1): 48 - 57. [Citado el 11 de julio del 2018]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002003000100007

18. Cancela M. Flavonoides. [sede Web]. [s.l.]: Cancela M; 2018. [Citado el 12 de octubre del 2018]. Disponible en: <https://www.plantasparacurar.com/flavonoides/>.
19. Google map. Commons W. Flavan-3-ol. 2018. [Citado el 19 de octubre del 2018]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Flavanol>
20. Aguilera M, Reza M, Chew R, Meza J. Propiedades funcionales de las antocianinas. Rev. Ciencias Biológicas y de Salud. [Revista en Internet]. 2011; 2 - 7.
21. Soto M. Clase de metabolitos secundarios y ruta de ácido shikímico. [Educación]. 2013. [Citado el 17 de setiembre del 2018]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/maryluz/clase-de-metabolitos-secundarios-y-ruta-de-acido-shikimico-por-qf-maril-roxana-soto-vsquez>
22. Gutiérrez Y, Miranda M, Varona N, Tania A. Validación de 2 métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) en Psidium guajaba. Rev. Cubana de Farmacia. [Revista en Internet]. 2000; 50 - 5. [Citado el 19 de octubre del 2018]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scieloOrg/php/reference.php?pid=S0034-75152000000100007&caller=scielo.sld.cu&lang=es>

23. Medc. Diccionario médico ilustrado: Medciclopedia. [sede Web]. [s.l.]: Medc; 2017. [Citado el 12 de setiembre del 2018]. Disponible en: http://www.iqb.es/diccio/a/images/a_galico.jpg.
24. Vásquez A, Alvarez E, López J, wall A, De La Rosa L. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. Rev. Alimentos. [Revista en Internet] .2012; 6 (2) : 84 - 93. [Citado el 07 de setiembre del 2018]. Disponible en: http://tecnociencia.uach.mx/numeros/v6n2/data/Taninos_hidrolizables_y_condensados_naturaleza_quimicaventajas_y_desventajas_de_su_consumo.pdf
25. Google. Pentagaloil Glucosa, 2013 [Citado el 19 de octubre del 2018]. Disponible en: <http://www.wikiwand.com/es/1,2,3,4,6-pentagaloil-glucosa>.
26. Yikrazuul L. [sede Web]. [s.l.]: Yikrazuul. Procyanidin B1.svg. 2017. [Citado el 26 de octubre del 2018]. Disponible en: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Procyanidin_B1.svg
27. Girbés T, Jimenez P. Avances en Medicina: nuevas terapias contra algunos tumores. Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía. 2008; 45: 261 - 749.

28. Commons W. Ácido elágico google map. [sede Web]. [s.l.]: Commons W; 2007. [Citado el 19 de octubre del 2018]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_el%C3%A1gico
29. Van K, McCarthy III J, Hustead C, Kearns L. Phlorotannin allocation among tissues of northeastern pacific kelps and rockweeds. Rev. Phicology. [Revista en Internet]. 1999; 35: 483 - 92. [Citado el 04 de junio del 2018]. Disponible en: <http://faculty.wvu.edu/kathyva/JP99.pdf>
30. Nono N. Chemical structure of eckol. In: Eckol.PNG [sede Web]. [s.l.]: Nono N; 2010. [Citado el 04 de octubre del 2018]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Eckol>
31. Isaza J. Taninos o polifenoles vegetales. Scientia et Technica. [Revista en Internet]. 2007; 13 (33): 13 - 8. [Citado el 29 de setiembre del 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/849/84903303.pdf>
32. Leyva E, Navarro G, Loredo S, Santos M. Ruta de síntesis de fenilpropanoides In: fitoesteroides Byabdfy, ed. Research Gate, 2011.
33. Parm B. Temas de farmacognosia. Plantas medicinales. Productos naturales. [sede Web]. [s.l.]: Parm B; 2015. [Citado el 19 de octubre del 2018]. Disponible en: <https://www.plantas-medicinal->

farmacognosia.com/temas/introduccion-a-la-farmacognosia/medicina-alternativa/.

34. Salazar A, Gamboa A. Importancia de las pectinas en la dinámica de la pared celular durante el desarrollo vegetal. Scielo. [Revista en Internet]. 2013; 32 (2): 67 - 75. [Citado el 14 de agosto del 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-19952013000200003

35. Zegada V. Extracción de pectina de residuos de cáscara de naranja por hidrólisis ácida asistida por microondas. Rev. Scielo. [Revista en Internet]. 2015; 1 (15): 65 - 7. [Citado el 23 de octubre del 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2518-44312015000100007

36. Cristancho L, Monroy R. Manual de métodos generales para determinación de carbohidratos. Primera ed. Tunja Boyacá, Colombia: UPTC; 2014: pp. 31.

37. Larionova M, Menéndez R, Valiente O, Fusté V. Estudio químico de los polisacáridos presentes en Aloe vera L. y Aloe arborescens Miller cultivados en Cuba. Scielo. [Revista en Internet]. 2009; 9 (1). [Citado el 11 de octubre del 2018]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000100004

ANEXOS

PANEL FOTOGRÁFICO



Foto 01: Recolección de hojas y flores de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”



Foto 02: Lavado y desinfección de hojas y flores de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”



Foto 03: Secado de hojas y flores de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”



Foto 04: Preparación y obtención del extracto de hojas y flores de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”



Foto 05: Identificación de flavonoides, taninos y polisacáridos



Foto 06: Cuantificación de flavonoides y taninos

RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS METABOLITOS ACTIVOS



Foto 07: Extracto acuoso de flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”



Foto 08: Cuantificación de flavonoides de flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”



Foto 09: Cuantificación de taninos de flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”

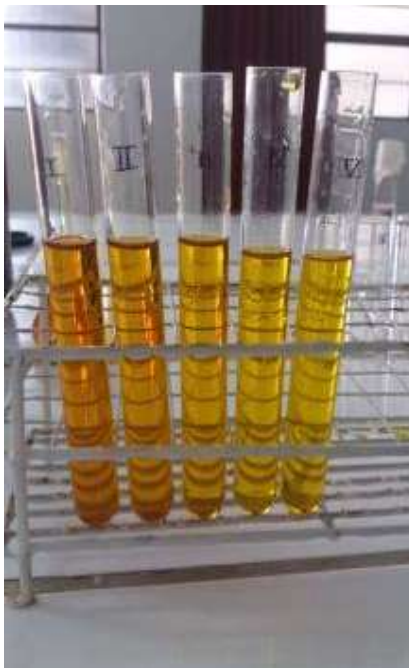


Foto 10: Cuantificación de polisacáridos de flores y hojas de *Robinia pseudoacacia* “flor blanca”