

FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE TRES ESPECIES ENDÉMICAS DEL GÉNERO *MICONIA* DEL DEPARTAMENTO DE AYACUCHO – 2019

Marco R. Arones Jara, Hugo R. Luna Molero, Edgar Cárdenas Landeo, Juan C. Paniagua Segovia¹

Unidad de Investigación e Innovación de Ciencias de la Salud

E-mail: marco.arones@unsch.edu.pe

RESUMEN

El género *Miconia* consta de aproximadamente 700 especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales de las Américas y es el más representativo de la familia Melastomataceae. Diferentes especies de *Miconia* se usan ampliamente en la medicina popular como agentes antiinflamatorios, para el tratamiento de enfermedades infecciosas. En la región de Ayacucho, se han reconocido tres especies endémicas *M. ayacuchanensis* Wurdack, *M. lachnoclada* Wurdack y *M. madisonii* Wurdack, recolectadas en la seja de la selva del Valle del Río Apurímac, Ene y Mantaro. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo cuantificar el contenido de fenoles totales, flavonoides y determinar la capacidad antioxidante de tres especies endémicas del género *Miconia* del departamento de Ayacucho. La cuantificación de fenoles totales (FT) se realizó por el método Folin – Ciocalteu, la cuantificación de flavonoides se realizó utilizando el reactivo de tricloruro de aluminio y la actividad antioxidante se realizó por el método DPPH. Las tres especies de *Miconia* presentaron triterpenos y compuestos fenólicos, como los flavonoides, quinonas y cumarinas. El extracto de las hojas de *M. ayacuchanensis* presentó el mayor contenido de FT, con un valor de $362,7 \pm 0,7$ mgAG/g, seguido por los extractos de las hojas *M. lachnoclada* y las hojas de *M. madisonii*, con valores de $340,8 \pm 0,3$ y $319,9 \pm 0,9$ mgAG/g, respectivamente. El extracto de las hojas de *M. ayacuchanensis* presentó el mayor contenido de flavonoides con un valor de $55,0 \pm 0,4$ mgERu/g, seguido por los extractos de las hojas de *M. lachnoclada* y las hojas de *M. madisonii* con valores de $50,7 \pm 0,3$ y $44,3 \pm 0,3$ mgERu/g, respectivamente. El extracto de las hojas de *M. ayacuchanensis* presentó mayor actividad antioxidante a la concentración de 100 μ g/mL con un valor de $91,8 \pm 0,2\%$; aunque estadísticamente menor al Trolox ($p < 0,05$), que presentó una actividad antioxidante de $94,9 \pm 0,2\%$. También *M. lachnoclada* y *M. madisonii* presentaron alta actividad antioxidante con valores de $81,3 \pm 3,4\%$ y $79,2 \pm 2,0\%$, respectivamente. Se concluye que las hojas de las tres especies de *Miconia* endémicas del departamento de Ayacucho presentan alto contenido de compuestos fenólicos y alta actividad antioxidante.

Palabras clave: *M. ayacuchanensis* Wurdack, *M. lachnoclada* Wurdack, *M. madisonii* Wurdack, actividad antioxidante, miconias endémicas.

CONTENT OF TOTAL PHENOLS, FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF THREE ENDEMIC SPECIES OF THE GENUS *MICONIA* FROM THE DEPARTMENT OF AYACUCHO - 2019

ABSTRACT

The genus *Miconia* consists of approximately 700 species distributed in the tropical and subtropical regions of the Americas and is the most representative of the Melastomataceae family. Different species of *Miconia* are widely used in folk medicine as anti-inflammatory agents, for the treatment of infectious diseases. In the Ayacucho region, three endemic species have been recognized: *M. ayacuchanensis* Wurdack, *M. lachnoclada* Wurdack and *M. madisonii* Wurdack, collected in the jungle seja of the Valle del Río Apurímac, Ene and Mantaro. The present research work aimed to quantify the content of total phenols, flavonoids and determine the antioxidant capacity of three endemic species of the genus *Miconia* from the department of Ayacucho. The quantification of total phenols (FT) was carried out by the Folin-Ciocalteu method, the quantification of flavonoids was carried out using the aluminum trichloride reagent and the antioxidant activity was carried out by the DPPH method. The three species of *Miconia* presented triterpenes and phenolic compounds, such as flavonoids, quinones and coumarins. The extract of the leaves of *M. ayacuchanensis* presented the highest content of FT, with a value of 362.7 ± 0.7 mgAG/g, followed by the extracts of the leaves *M. lachnoclada* and the leaves of *M. madisonii*, with values of 340.8 ± 0.3 and 319.9 ± 0.9 mgAG/g, respectively. The extract of the leaves of *M. ayacuchanensis* presented the highest content of flavonoids with a value of 55.0 ± 0.4 mgERu/g, followed by the extracts of the leaves of *M. lachnoclada* and the leaves of *M. madisonii* with values of 50.7 ± 0.3 and 44.3 ± 0.3 mgERu/g, respectively. The extract of the leaves of *M. ayacuchanensis* presented higher antioxidant activity at a concentration of 100 μ g/mL with a value of $91.8 \pm$

0.2%; although statistically lower than Trolox ($p < 0.05$), which presented an antioxidant activity of $94.9 \pm 0.2\%$. Also *M. lachnoclada* and *M. madisonii* presented high antioxidant activity with values of $81.3 \pm 3.4\%$ and $79.2 \pm 2.0\%$, respectively. It is concluded that the leaves of the three endemic Miconia species in the department of Ayacucho have a high content of phenolic compounds and high antioxidant activity.

Keywords: *M. ayacuchanensis* Wurdack, *M. lachnoclada* Wurdack, *M. madisonii* Wurdack, antioxidant activity, endemic miconia.

¹Colaborador

INTRODUCCIÓN

El género *Miconia* consta de aproximadamente 700 especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales de las Américas¹ y es el más representativo de la familia

Melastomataceae, con amplia distribución en el continente americano. Diferentes especies de *Miconia* se usan ampliamente en la medicina popular brasileña como agentes antiinflamatorios, para el tratamiento de enfermedades infecciosas y varios síntomas que pueden estar relacionados con ROS (Almeida et al., 1998; Alves et al., 2000; Rodrigues et al., 2008, 2011; Lima et al., 2018)².

Las especies pertenecientes a la familia Melastomataceae son arbustos, hierbas o árboles de distribución pantropical, con mayor presencia de especies en la región occidental de América del Sur, la Guayana y sudeste del Brasil. En Colombia la familia está representada por 64 géneros nativos que incluyen más de 900 especies, distribuidas en la mayoría de ecosistemas desde el nivel del mar hasta las zonas de páramo (Mendoza y Ramírez, 2006)³.

La familia Melastomataceae es reconocida en el Perú con 43 géneros y 660 especies (Brako & Zarucchi, 1993; Ulloa Ulloa et al., 2004), principalmente arbustos y árboles; asimismo, se han reconocido 169 especies y 13 taxones subespecíficos como endemismos, en 26 géneros; y el género *Miconia* incluye el mayor número de especies endémicas. Las Melastomataceae endémicas se encuentran principalmente en las regiones Bosques Muy Húmedos Montanos, Bosques Muy Húmedos Premontanos y Bosques Húmedos Amazónicos, entre los 100 y 3500 m de altitud⁴.

Los extractos de *Miconia* y los compuestos aislados han demostrado diversas actividades biológicas, como antibióticas, antitumorales, analgésicas y antipalúdicas (Hasrat et al., 1997; Cunha et al., 2003)^{5,6}. Varias especies de plantas del género *Miconia* se usan comúnmente en la medicina popular como agentes antiinflamatorios y para el tratamiento de enfermedades infecciosas², son utilizados para tratar dolor gástrico y la gastritis (Silva et al., 2000)⁵. Las infusiones y extractos de especies de *Miconia* también se usan como analgésicos, antimicrobianos, antipalúdicos, antioxidantes, antiinflamatorios, antinociceptivos, antimutagénicos y antitumorales^{2,7}.

En la medicina tradicional principalmente de Asia y Sur América son reconocidas por sus propiedades astringentes, hemostáticas, antibacterianas y antiarréicas (Freire et al, 2002)³. En Colombia, algunas especies de esta familia son conocidas por sus propiedades medicinales para el tratamiento de la malaria, infecciones, heridas en la piel, enfermedades respiratorias, cálculos en la vejiga, otras dolencias genitourinarias y como diurético (García, 1974). Las especies de melastomataceas de las zonas rurales del Distrito Capital son principalmente usadas con fines maderables y ornamentales (Gutiérrez et al, 2011)³.

Los estudios fitoquímicos de especies de *Miconia* muestran una composición rica en fenólicos (Pieroni et al., 2011; Serna y Martínez, 2015)², contienen triterpenos (Chan et al., 1992; Macari et al., 1990), flavanonas (Li et al., 2001) y compuestos de quinona (Bernays et al., 1984)⁵.

Estudios previos en especies de *Miconia* han demostrado la presencia de triterpenos, cumarinas y benzoquinonas (Lowry, 1968; Macari et al. 1990; Chan et al. 1992; Gunatilaka et al. 2001)⁶.

Por medio de los estudios de químicos de extractos y fracciones de especies de esta familia se ha determinado la presencia de metabolitos secundarios de tipo fenólico como taninos hidrolizables, flavonoides y glicosidos cianogénicos y en menor proporción terpenos y alquil bencenos. A partir de los extractos de flores, frutos y hojas de especies de la familia se han aislado flavonoides de tipo antocianina, glicosidos de flavona y flavonoles con actividades antioxidantes y antibacterianas (Susanti et al, 2007)³.

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales. Actualmente es evidente que exista una relación entre alimentación y las enfermedades crónico – degenerativas, las cuales también se relacionan directamente con los radicales libres y están asociados con una serie de patologías que afectan

masivamente a la población. Esto es debido en gran parte al estrés oxidativo generado, contribuyendo de manera significativa el estilo de vida, tipo de alimentos que se ingieren y la manipulación o exposición a sustancias químicas que contribuyen a la disminución de la resistencia a las enfermedades⁸.

Los compuestos fenólicos tienen una gran capacidad antioxidante, considerada la actividad biológica responsable del efecto preventivo sobre algunas enfermedades de origen cardíaco e inmunológico. Dentro de esta gran familia pueden encontrarse tres grupos principales: ácidos fenólicos, los polifenoles y los flavonoides, siendo estos últimos el grupo más común. La finalidad o mecanismo de estos compuestos reside en su capacidad para captar los radicales libres que se pueden generar en las células del cuerpo humano que son resultado de la combinación de muchos factores ambientales, incluida la contaminación atmosférica⁸.

En la región de Ayacucho, se han reconocido tres especies endémicas *M. ayacuchanensis* Wurdack, *M. lachnoclada* Wurdack y *M. madisonii* Wurdack, recolectadas en la seja de la selva del Valle del Río Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM)⁴.

En ese sentido, en razón a la información desarrollada párrafos anteriores, se planteó el presente trabajo de investigación y estuvo orientado a cuantificar el contenido de fenoles totales, flavonoides y determinar la capacidad antioxidante de cuatro especies endémicas del género *Miconia* del Departamento de Ayacucho.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño metodológico

Lugar de ejecución. El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Definición de la muestra. La muestra estuvo constituida por las hojas y frutos de las tres especies del Género *Miconia*.

Procedimiento experimental

a) Análisis fitoquímico

Preparación de extractos. Se prepararon cuatro extractos de cada droga vegetal de las trece especies. Se pesó 2 g de cada droga vegetal seca y molida, y se adicionó 20 mL de solvente por separado (cloroformo, etanol 96%, agua y ácido clorhídrico). La extracción se realizó por maceración con agitación por 24 horas⁹.

Estudio fitoquímico preliminar. Para la identificación de los metabolitos secundarios se empleó el método de análisis cualitativo de principios activos a través de test preliminares^{10,11}. Según el tipo de extractos se evaluó la presencia de los siguientes metabolitos: triterpenos y/o esteroides (ensayo de Liebermann-Burchard), quinonas (ensayo de Borntrager), flavonoides (ensayo de Shinoda), cardiotónicos (reactivo de Kedde), cumarinas (reactivo de Baljet), fenoles y/o taninos (reactivo de cloruro férrico), antocianinas (ensayo de pH), saponinas (ensayo de espuma), alcaloides (ensayos de Dragendorff, Meyer y Wagner).

b) Determinación de compuestos fenólicos

Preparación del extracto.- Los extractos de las tres especies fueron obtenidos por percolación, usando como solvente una etanol 70°. El percolado fue filtrado, concentrado en un rotavapor y secado en una estufa a 40°C¹².

Cuantificación de fenoles totales.- Se utilizó el método de Folin Ciocalteu descrito por Sousa et al. (2007)¹³. Se preparó una solución stock de ácido gálico de 60 µg/mL y soluciones estándar de ácido gálico de 10; 20 y 40 µg/mL. Se midió 100 µL de cada solución estándar y adicionó 500 µL de reactivo de Folin Ciocalteu (1:10) y 400 µL de Na₂CO₃ 7,5%. Se dejaron reposar durante 30 minutos y se midieron las absorbancias a 765 nm. Para la cuantificación de compuestos fenólicos en los extractos, se procedió de igual manera, para lo cual se prepararon previamente soluciones del extracto seco de 200 µg/mL en etanol 50°. Se calculó el porcentaje de fenoles totales expresados en miligramos equivalentes de ácidos gálico por gramo de muestra (mgEAG/g).

Cuantificación de flavonoides.- Se utilizó el método descrito por Barrón et al. (2011)¹⁴. Se preparó una solución stock de rutina de una concentración de 40 µg/mL. Se midieron diferentes volúmenes de la solución stock, se adicionaron 0,5 mL de AlCl₃ 2% y completaron a volumen de 5,0 mL con etanol 50°, de tal manera que se obtuvieron soluciones estándar de 8 µg/mL hasta 32 µg/mL. Se dejaron reposar 30 minutos y luego se midió las absorbancias a 415 nm. Para la cuantificación de flavonoides en los extractos secos, se procedió de igual manera que las soluciones estándar, para ello se prepararon soluciones del extracto seco de 800 µg/mL en etanol

50°. Se calculó el porcentaje de flavonoides totales expresados en miligramos equivalentes de rutina por gramo de muestra (mgERu/g).

c) Determinación de la actividad antioxidante

Preparación del extracto.- Para la cuantificación de la actividad antioxidante se utilizaron los extractos preparados para la cuantificación de compuestos fenólicos.

Cuantificación de la actividad antioxidante por el método DPPH.- Se utilizó el método DPPH descrito por Sousa et al. (2007)¹³. Se preparó una solución de DPPH de 40 µg/mL en etanol de 96°, a partir del cual se preparó soluciones estándar de DPPH de 1; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35 y 40 µg/mL. Se dejaron reposar 30 minutos y luego se midieron las absorbancias a 515 nm, utilizando como blanco la solución de etanol de 96°. Para la determinación de la actividad antioxidante del Trolox y los extractos, se prepararon soluciones de una concentración de 500 µg/mL en etanol 96°, a partir de las cuales se prepararon diluciones de 25; 50; 100; 150; 200 y 250 µg/mL. Se midieron 300 µL de cada dilución y se adicionaron 2,7 mL de solución de DPPH (40 µg/mL). Se dejaron reposar 30 minutos y se midieron las absorbancias a 515 nm, calibrando el espectrofotómetro con el blanco (300 µL de agua y 2,7 mL de DPPH). Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante:

$$AA(\%) = \left[\frac{A_c - (A_m - A_b)}{A_c} \right] \times 100$$

donde, AA: Actividad antioxidante; Ac: Absorbancia del control; Am: Absorbancia de la muestra; Ab: Absorbancia del blanco.

Se calculó la concentración media de inhibición (CI₅₀) de la actividad antioxidante de la ecuación exponencial ($y = y_0 + Ae^{R0x}$) del porcentaje de DPPH remanente versus concentración Trolox y extractos, utilizando el software OriginPro.

Análisis de datos

Los resultados del contenido de fenoles totales, flavonoides y la concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante corresponden a la media de tres repeticiones. Para la comparación de medias se aplicó la prueba de Análisis de Varianza (95%), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Duncan, utilizando el Software IBM SPSS Statistics 23¹⁵.

RESULTADOS

En la tabla 1, se presentan los resultados del análisis fitoquímico preliminar de tres especies endémicas del género *Miconia*. Los resultados demuestran que las hojas de *M. ayacuchanensis*, *M. lachnocladay* *M. madisonii* presentaron una similar composición de metabolitos secundarios, entre los que se puede resaltar a los triterpenos y compuestos fenólicos, como los flavonoides, quinonas y cumarinas.

Estudios en otras especies de *Miconia* han demostrado que los taninos o polifenoles son los metabolitos secundarios más abundantes y representativos, a este tipo de compuestos se les atribuyen las características astringentes y antioxidantes de un gran número de especies. Los taninos presentes son hidrolizables y poseen núcleos derivados de los ácidos gálico y elágico (Yoshida et al. 2005; Isaza J et al. 2004)³. Asimismo, se ha reportado que las partes aéreas de *M. rubiginosa* contienen ácidos ursólicos y oleanoicos, además de triterpenos como α-amirina, β-amirina, lupeol y β-sitosterol⁶; el extracto metanólico de las hojas de *M. cabucu* contiene un dímero de flavona ligado a C₆-C₆, así como glicósidos de quercetina, myricetina, kaempferol y ácido gálico⁵; y *M. prasina* contiene flavanonas¹. Estudios fitoquímicos del género *Miconia* revelaron la presencia de varios triterpenos (Peixoto et al., 2011) y flavanonas (Zhang et al., 2003)¹. Dichos resultados confirman los hallazgos de la presente investigación.

Tabla 1. Análisis fitoquímico preliminar de tres especies endémicas del género *Miconia* del departamento de Ayacucho, 2019.

Ensayo	Especies		
	<i>M. ayacuchanensis</i>	<i>M. lachnoclada</i>	<i>M. madisonii</i>
Triterpenos y/o esteroides	+	+	+
Quinonas	+	+	+
Flavonoides	+	+	+
Cardiotónicos	-	-	-

Fenoles y/o taninos	+	+	+
Antocianinas	-	-	-
Saponinas	+	+	+
Alcaloides	-	-	-
Cumarinas	+	+	+

(+) Positivo (-) Negativo

En la figura 1, se reporta el contenido de compuestos fenólicos de las tres especies endémicas del género *Miconia*, *M. ayacuchanensis*, *M. lachnoclada* y *M. madisonii*. La cuantificación de fenoles totales (FT) se realizó por el método Folin – Ciocalteu, expresado como miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de extracto (mgEAG/g). El extracto de las hojas de *M. ayacuchanensis* presentó el mayor contenido de FT, con un valor de $362,7 \pm 0,7$ mgAG/g, seguido por los extractos de las hojas *M. lachnoclada* y las hojas de *M. madisonii*, con valores de $340,8 \pm 0,3$ y $319,9 \pm 0,9$ mgAG/g, respectivamente.

La cuantificación de flavonoides, se realizó utilizando el reactivo de tricloruro de aluminio y el resultado se expresó como miligramos de flavonoides equivalentes a rutina por gramo de extracto (mgERu/g). El extracto de las hojas de *M. ayacuchanensis* presentó el mayor contenido de flavonoides con un valor de $55,0 \pm 0,4$ mgERu/g, seguido por los extractos de las hojas de *M. lachnoclada* y las hojas de *M. madisonii* con valores de $50,7 \pm 0,3$ y $44,3 \pm 0,3$ mgERu/g, respectivamente.

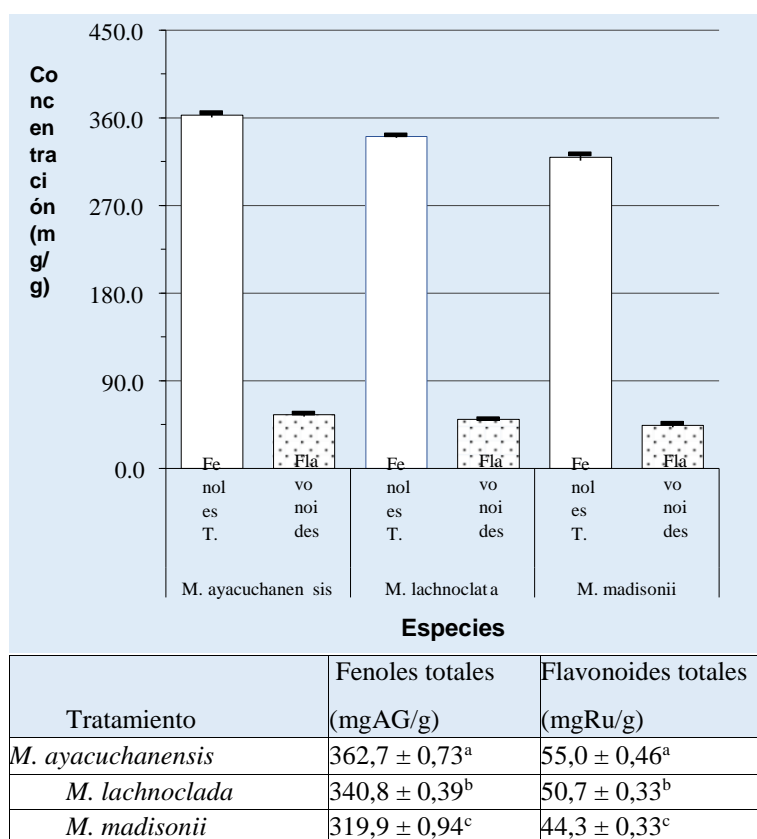


Figura 1. Contenido de compuestos fenólicos de tres especies endémicas del género *Miconia* del departamento de Ayacucho, 2019

En la figura 2 se presentan los resultados de la evaluación de la actividad antioxidante (%AA) por el método DPPH, de los diferentes extractos y el control positivo (Trolox), a la concentración de 25 µg/mL 50 µg/mL 100 µg/mL.

Se observa que todas las tres especies de *Miconia* tienen actividad secuestradora del radical DPPH a las concentraciones evaluadas. El extracto de las hojas de *M. ayacuchanensis* presentó mayor actividad antioxidante a la concentración de 100 µg/mL con un valor de $91,8 \pm 0,2\%$; aunque estadísticamente menor al Trolox ($p < 0,05$), que presentó una actividad antioxidante de $94,9 \pm 0,2\%$. *M. lachnoclada* y *M. madisonii* también presentaron alta actividad antioxidante con valores de $81,3 \pm 3,4\%$ y $79,2 \pm 2,0$, respectivamente. Las tres especies presentaron actividad antioxidante estadísticamente similares ($p > 0,05$).

En la figura 5, también se presentan los resultados de la Concentración Media Inhibitoria (CI₅₀) de la actividad antioxidante por el método DPPH de los extractos y el control positivo (Trolox). Según el método a menor valor de CI₅₀ mayor es la actividad antioxidante. Los extractos de las tres especies presentaron valores de CI₅₀ estadísticamente superiores al Trolox que presentó un valor de CI₅₀ de 38,6 ± 0,9 µg/mL (p<0,05). Los extractos de las hojas de las tres *de* Miconia evaluadas presentaron un valor de CI₅₀ muy significativo y promisorio, con valores de 47,1 ± 1,79; 45,6 ± 3,9 y 45,2 ± 1,7 µg/mL, respectivamente.

No existen reportes sobre la actividad antioxidantes de las tres especies de Miconia endémicas de la región de Ayacucho; sin embargo, estudios en otras especies de Miconia sí reportaron estudios de su actividad antioxidante y otras actividades biológicas relacionadas. Por mencionar, *Miconia summa*, *Minconia elaioides* y *Miocnia sp* presentaron apreciable actividad antioxidante³. Asimismo, se reportó que *M. latecrenata* posee un alto contenido de taninos y los isómeros elagitaninos y presenta un alto efecto antioxidante, alta actividad antibacteriana, así como una alta actividad antimutagénica. La acción antioxidante del extracto acuoso mostró baja correlación con la actividad antimutagénica².

Otros estudios sobre especies de Miconia, demostrarían el alto potencial terapéutico de este interesante grupo de especies vegetales. Las partes aéreas de *M. rubiginosa* poseen actividad analgésica y se ha determinado que contienen ácidos ursólicos y oleanoicos, además de triterpenos como α-amirina, β-amirina, lupeol y β-sitosterol⁶. Se ha determinado que el uso del extracto *M. prasina* es seguro a las concentraciones probadas y reforzó las propiedades terapéuticas descritas previamente para Miconia especies al mostrar sus efectos protectores sobre la mutagenicidad inducida por doxorubicina⁷. *M. willdenowii* posee efecto esquistosomicida, además contiene una benzoquinona denominada Primin¹⁶. *M. willdenowii* presenta actividad leishmanicida y antimicrobiana, además contiene la benzoquinona primin¹⁷.

Sin embargo, no se ha realizado ningún estudio sobre su genotoxicidad y es necesario determinar sus posibles efectos mutagénicos para desarrollar productos y productos químicos a partir de estos extractos⁷. Varias especies de Miconia, así como los compuestos aislados de este género, han mostrado actividades biológicas, incluidos los efectos genotóxicos y mutagénicos (Serpeloni et al., 2008). Además, se ha informado que Miconia myriantha es un inhibidor enzimático de las proteasas aspárticas secretadas (SAP) de Candida albicans (Li et al., 2001)¹.

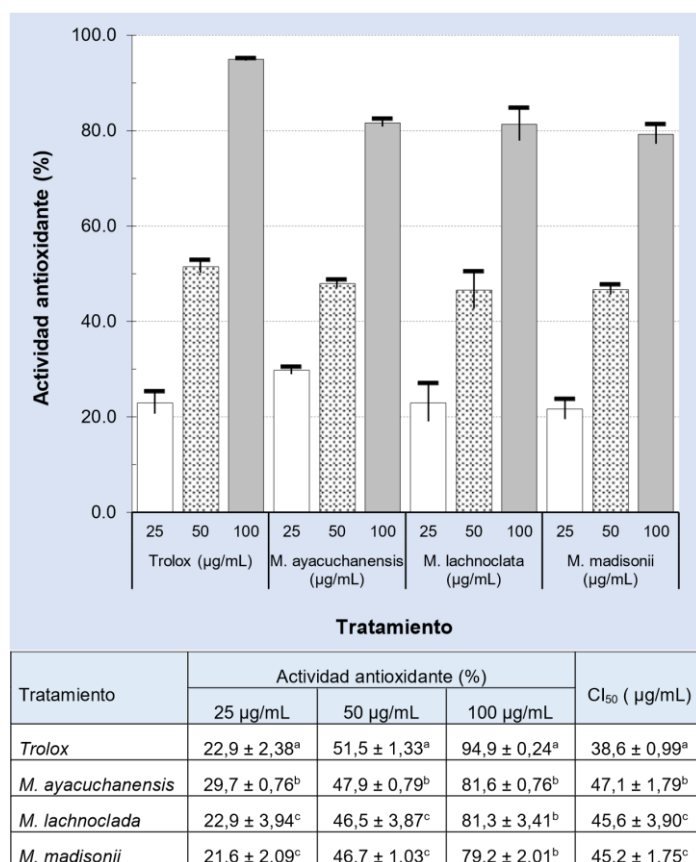


Figura 5. Actividad antioxidante de tres especies endémicas del género *Miconia* del departamento de Ayacucho, 2019.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tarawneh AH, León F, Ali Ibrahim M, Pettaway S, McCurdy CR. Flavanones from *Miconia prasina*. *Phytochem Lett.* 2014; 7:130-2.
2. Costa Gontijo D, Costa Gontijo P, Brandão GC, Nogueira Díaz MA, Braga de Oliveira A, Gomes Fietto L, et al. Antioxidant study indicative of antibacterial and antimutagenic activities of an ellagitannin-rich aqueous extract from the leaves of *Miconia latecrenata*. *J Ethnopharmacol.* 2019;236:114-23.
3. Plazas Gonzáles EA. Tamizaje químico y evaluación de la actividad antioxidante de hojas y frutos de tres especies del género *miconia* (melastomataceae). *Rev Cienc Desarro E Innov.* 2016;2(1):43-8.
4. León B. Melastomataceae endémicas del Perú. *Rev Peru Biol.* 2006;13(2):428-52.
5. Rodrigues J, Rinaldo D, Campaner dos Santos L, Vilegas W. An unusual C6–C6'' linked flavonoid from *Miconia cabucu* (Melastomataceae). *Phytochemistry.* 2007;68:1781-4.
6. Spessoto MA, Ferreira DS, Crotti EM, Silva MLA, Cunha WR. Evaluation of the analgesic activity of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae). *Phytomedicine.* 2003;10:606-9.
7. Mara Serpeloni J, Mazzaron Barcelo GR, Mori MP, Yanagui K, Vilegas W, Varanda EA, et al. Cytotoxic and mutagenic evaluation of extracts from plant species of the *Miconia* genus and their influence on doxorubicin-induced mutagenicity: An in vitro analysis. *Exp Toxicol Pathol.* 2011;63:499-504.
8. Zorrilla A. El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Rev Cuba Investig Bioméd.* 2002;21(3):178-85.
9. Pérez F, León G, Ávalos F, Leopoldo Vásquez. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. *Pueblo Cont.* 2016;22(2):421–426.
10. Domínguez XA. Métodos de investigación fitoquímica. México: Limusa; 1979. 281 p.
11. Lock O. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Lima - Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica el Perú; 1994. 300 p.
12. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Colombia: Convenio Andrés Bello; 2000. 247 p.
13. Sousa C, Rocha H, Viera G, Cruz M, da Costa C, Araújo D, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinales. *Quím Nova.* 2007;30(2):351-5.
14. Barrón R, García M del R, Soto M, Colina T, Kite G. Flavonoides y actividad antioxidante de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *RevF Itotec Mex.* 2011;34(3):151-7.
15. Wayne D. Bioestadística: Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 4a ed. México: Limusa; 2010. 298 p.
16. Viegas FPD, de Castro AT, Castro AP, Siqueira Í, Rosa W, Espuri PF, et al. In vitro schistosomicidal activity of the crude extract, fractions and Primin, the major active benzoquinone constituent from the leaves of *Miconia willdenowii* (Melastomaceae). *South Afr J Bot.* 2017;111:365-70.
17. Dias Viegas FP, Ferreira Espuri P, Conceição Oliver J, Chaves Silva N, Tranches Dias AL, Marques MJ, et al. Leishmanicidal and antimicrobial activity of primin and primin- containing extracts from *Miconia willdenowii*. *Fitoterapia.* 2019;138:1-5.