

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

ESTUDIO FITOQUÍMICO, CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS Y TALLOS DE PIPER ADUNCUM L. "MATICO" Y POTHOMORPHE UMBELLATA L. "SAJRA MÁSCARA"

PRESENTADO POR:

BR. ESTEFANI TAPIA MARURI

BR. MARLON ROBERTO MOROCHARA SORIA

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

ASESORA:

Dra. LELIA MARIA RODRIGUEZ TORRES

CO - ASESOR:

Mgt. BLAS PORFIRIO PUMA CAPARO

CUSCO – PERÚ
2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, Asesor del trabajo de investigación/tesis titulada: Estudio fitoquímico, Cuantificación de polifenoles Totales y actividad antioxidante in vitro del extracto etanólico al 70% de las hojas y Tallos de Piper aduncum L. "Mahu" y Pothomorphe Umbellata L. "Sajra más cara" presentado por: Tapio Maruri Estefani con DNI Nro.: 46013530 presentado por: Morochara Sonia Marlon Roberto con DNI Nro.: 45586932 para optar el título profesional/grado académico de Químico Farmacéutico

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 1 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 8 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 04 de diciembre de 2024



Firma

Post firma LELIA M. RODRIGUEZ TORRES

Nro. de DNI 23963486

ORCID del Asesor 0000-0002-8750-6770

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid: 27259:412432306

Estefani- Marlon TAPIA- MOROCHARA

TESIS FINAL DEL FINAL DE ESTEFANI Y MARLON 3-12-2024.docx

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid::27259:412432306

102 Páginas

Fecha de entrega
3 dic 2024, 10:50 p.m. GMT-5

20,359 Palabras

Fecha de descarga
3 dic 2024, 11:42 p.m. GMT-5

114,048 Caracteres

Nombre de archivo
TESIS FINAL DEL FINAL DE ESTEFANI Y MARLON 3-12-2024.docx

Tamaño de archivo
35.3 MB

8% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 16 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 7%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 3%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a Dios, quien ha iluminado mi camino con amor y paciencia. A mis padres, Juana Maruri y Braulio Tapia, por su incondicional amor y apoyo incansable. A mi amado esposo Edwin Farfán, cuya constante presencia, comprensión y amor han sido mi mayor fuente de fortaleza; gracias por estar siempre a mi lado en cada desafío y logro. A mis hijos, Augusto Rafael y Marcela Sofía, quienes han llenado mi vida de alegría y han mostrado una paciencia admirable durante este arduo viaje; ustedes son mi mayor inspiración y motivación. A mi gran amiga y mentora, Q.F. Lisbeth Yesica Torres, por su apoyo y amistad invaluable. Les agradezco a todos desde lo más profundo de mi corazón.

Estefani Tapia Maruri

Esta tesis es dedicada para toda mi linda y maravillosa familia de Cusco y de Quillabamba. A mis apreciados padres Gloria Soria, Carlos Rado, Delia Arteaga y Roberto Morochara, a mis hermanos Alexandra Morochara y Rodrigo Morochara; por haber apostado por mí y darme las herramientas necesarias para afrontar este largo y arduo proceso. También va dedicado a mis abuelitos Evangelina Castilla y Víctor Soria que desde el cielo me bendicen y estas presentes en todos mis logros.

Marlon Roberto Morochara Soria.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por ayudarme a alcanzar este tan anhelado objetivo.

Mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco por brindarme la oportunidad de estudiar en esta prestigiosa entidad. Extiendo mi gratitud a mis estimados docentes de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica, quienes me inculcaron el amor y la pasión por mi profesión.

Quiero expresar mi especial agradecimiento a mis asesores Dra. Q.F. Lelia María Rodríguez Torres y Mgt. Quim. Blas Porfirio Puma Caparo, por su invaluable guía y apoyo en la culminación de este primer paso en mi vida profesional.

Estefani Tapia Maruri

Quisiera expresar mi sincero agradecimiento a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, así como a todo el cuerpo docente, por las valiosas enseñanzas brindadas a lo largo de este extenso proceso de formación profesional.

Mi agradecimiento se extiende de manera especial a la Dra. Lelia María Rodríguez Torres y al Mgt. Blas Porfirio Puma Caparo, quienes nos ofrecieron su incondicional apoyo para culminar este importante proyecto de tesis.

También deseo agradecer profundamente a Daniela Tapia por su constante apoyo durante todo este proceso

Marlon Roberto Morochara Soria

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
INDICE DE IMÁGENES.....	vii
INDICE DE TABLAS.....	ix
INDICE DE ANEXOS.....	x
ABREVIATURAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	xvi
CAPÍTULO I.....	1
GENERALIDADES.....	1
1.1 Planteamiento del problema.....	1
1.2 Formulación del problema.....	2
1.3 Objetivos.....	3
1.3.1 Objetivo general.....	3
1.3.2 Objetivos específicos.....	3
1.4 Justificación del estudio.....	3
1.5 Hipótesis.....	4
CAPÍTULO II.....	5
MARCO TEÓRICO – CONCEPTUAL.....	5
2.1 Visión histórica.....	5
2.2 Antecedentes del estudio.....	6
2.2.1. Antecedentes internacionales.....	6
2.2.2. Antecedentes nacionales.....	8

2.2.3. Antecedentes locales	11
2.3. Bases Teórico Científicas	12
2.3.1. Farmacobotánica	12
2.3.2. Acciones farmacológicas	16
2.3.3. Método de determinación de la actividad antioxidante y cuantificación de polifenoles totales	25
2.4. Glosario de términos	26
CAPÍTULO III.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1 Materiales.....	28
3.1.1. Material botánico.....	28
3.1.2. Materiales de campo.....	28
3.1.3. Materiales de escritorio	28
3.1.4. Materiales de laboratorio.....	28
3.1.5. Equipos de laboratorio	29
3.1.6. Reactivos	29
3.1.6. Otros	30
3.1.7. Software para el trabajo	30
3.2. Diseño metodológico.....	30
3.2.1. Tipo de estudio.....	30
3.2.2. Diseño de la investigación	30
3.3. Variables implicadas.....	32
3.3.1 variable independiente	32
3.3.2 Variable dependiente	32
3.4. Variables no implicadas.....	34
3.5. Procedimiento de la investigación.....	36
3.5.1. Preparación de los extractos etanólicos al 70 % de las especies vegetales <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Pothomorphe umbellata</i> L.....	36
3.5.2. Porcentaje de humedad de <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Pothomorphe umbellata</i> L.	36
3.5.3. Porcentaje de Rendimiento de los extractos hidroalcohólicos <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Pothomorphe umbellata</i> L.	37

3.5.4. Prueba de solubilidad del pulverizado de hojas y tallos de <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Pothomorphe umbellata</i> L.....	37
3.5.5. Análisis fitoquímico cualitativo de las hojas y tallos de <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Pothomorphe umbellata</i>	37
3.5.6. Cuantificación de polifenoles método de Folin - Ciocalteu de <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Pothomorphe umbellata</i> L.	38
3.5.7. Actividad antioxidante in vitro método DPPH ((2,2-difenil-1 picrilhidracilo) de <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Pothomorphe umbellata</i> L.....	40
3.6. Flujoograma de desarrollo del proyecto	43
CAPÍTULO IV.....	44
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	44
4.1. Ensayos preliminares.....	44
4.1.1. Porcentaje de humedad <i>Piper aduncum</i> L. “Matico” y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”.....	44
4.1.2. Determinación de la solubilidad del extracto etanólico al 70% de <i>Piper aduncum</i> L. “Matico” y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”	45
4.1.3. Porcentaje de rendimiento del extracto etanólico al 70 % de <i>Piper aduncum</i> L. “Matico” y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”.....	46
4.1.4. Análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico al 70 % de <i>Piper aduncum</i> L. “Matico” y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”	47
4.2. Determinación de polifenoles totales del extracto etanólico al 70% de <i>Piper aduncum</i> L. (“Matico”) y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. (“Sajra máscara”)	49
4.2.1. Curva de calibración de ácido gálico y muestras	49
4.2.2. Contenido de polifenoles totales de <i>Piper aduncum</i> L. “Matico” y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”	50
4.3. Actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH para el extracto etanólico al 70% de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. (Sajra máscara).....	52
4.3.1. Patrón trolox.....	52
4.3.2. Capacidad antioxidante de los extractos etanólicos al 70 % de las especies vegetales <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. y cálculo del IC50%.....	55
CONCLUSIONES.....	60

RECOMENDACIONES	61
BIBLIOGRAFÍA.....	62
ANEXOS.....	68

INDICE DE IMÁGENES

Figura 1: <i>Piper aduncum</i> L. (“Matico”).....	13
Figura 2: <i>Pothomorphe umbellata</i> L. (“Sajra máscara”)	14
Figura 3: Equilibrio redox fisiológico resultado del balance entre los mecanismos de oxidación y los sistemas antioxidantes celulares, (met: metionina)	17
Figura 4: Nomenclatura de las principales especies reactivas del oxígeno (ERO)	18
Figura 5: Esquema de producción de especies activas de oxígeno.....	19
Figura 6: Formación de EROS vía complejos de cadena respiratoria	19
Figura 7: Donación de un electrón por parte de un antioxidante a un radical libre.	22
Figura 8: Tipos y estructuras químicas de algunos polifenoles.....	24
Figura 9: Reacción química del reactivo Folin Ciocalteu con cambio de coloración.....	26
Figura 10: Procedimiento DPPH.	42
Figura 11: Curva patrón de ácido gálico	49
Figura 12: Curva patrón trolox concentración vs absorbancia.	53
Figura 13: Porcentaje de captación del radical DPPH concentración vs % de inhibición.....	54
Figura 14: Curva de concentración vs % de inhibición del extracto etanólico al 70% de Sajra máscara frente al radical DPPH y cálculo del IC ₅₀ %.	56
Figura 15: Curva de Concentración vs Absorbancia del extracto etanólico al 70% de Matico frente al radical DPPH y cálculo del IC ₅₀ %.	56
Figura 16: Porcentaje de captación del radical DPPH, Concentración vs Porcentaje de captación del radical DPPH del extracto etanólico al 70% de <i>Pothomorphe umbellata</i> L. (Sajra máscara).....	57

Figura 17: Porcentaje de captación del radical DPPH, Concentración vs
Porcentaje de captación del radical DPPH del extracto etanólico al 70% de *Piper
aduncum* L. (Matico).58

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño Experimental para la cuantificación de polifenoles totales por método Folin-Ciocalteu.	31
Tabla 2. Diseño Experimental para la actividad antioxidante por el método DPPH.	31
Tabla 3. Operacionalización de variables	34
Tabla 4. Procedimiento para la preparación de la curva patrón de ácido gálico y muestras de estudio.....	40
Tabla 5. Preparación de la curva de calibración de Trolox.	41
Tabla 6. Preparación de las muestras de acuerdo a cada dilución.....	42
Tabla 7. Flujograma de Investigación	43
Tabla 4. 1 Porcentaje de humedad de <i>Piper aduncum</i> L. “Matico” y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”	44
Tabla 4. 2 Solubilidad del Extracto etanólico al 70% de <i>Piper aduncum</i> L. “Matico” y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”	45
Tabla 4. 3 Porcentaje de Rendimiento de los Extractos de <i>Piper aduncum</i> L. “Matico” y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”	46
Tabla 4. 4 Estudio fitoquímico cualitativo del extracto etanólico al 70% de <i>Piper aduncum</i> L. “Matico” y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”	47
Tabla 4. 5 Elaboración de la curva patrón de Ácido Gálico.....	49
Tabla 4. 6 Contenido de Polifenoles Totales en <i>Piper aduncum</i> L. (“Matico”) y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. (“Sajra máscara”).	50
Tabla 4. 7 Absorbancia y Porcentaje de la Curva Patrón Trolox.....	52
Tabla 4. 8 Absorbancia y Porcentaje de Inhibición del Radical DPPH del extracto etanólico al 70% de <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Pothomorphe umbellatum</i> L.	55

INDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1. Ficha de recolección de la especie vegetal <i>Piper aduncum</i> L. "Matico"	68
Anexo N° 2. Ficha de recolección de la especie vegetal <i>Pothomorphe umbellata</i> L. "Sajra máscara"	69
Anexo N° 3. Ficha de prueba de solubilidad preliminar fitoquímico de <i>Piper aduncum</i> L. "Matico" y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. "Sajra máscara"	70
Anexo N° 4. Ficha de recolección de datos	71
Anexo N° 5. Recolección de las especies vegetal en la provincia de la Convención distrito de Santa Teresa	73
Anexo N° 6. Certificado de determinación taxonómica de las especies vegetales	74
Anexo N° 7. Archivo Fotográfico	75
Anexo N° 8. Cálculos para la cuantificación de polifenoles: Matico	83
Anexo N° 9. Cálculos para la cuantificación de polifenoles: Sajra máscara	84

ABREVIATURAS

CEPLAM: Centro de Estudios en Plantas Alimenticias y Medicinales.

COX: Ciclooxygenasa.

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo.

ERO: Especies Reactivas del Oxígeno.

LDL: Lipoproteínas de baja densidad.

NADPH⁺: Dinucleótido de Adenina y Nicotinamida Fosfato.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

RL: Radicales Libres.

ROS: Reactive Oxygen Specie.

SOD: Superóxido Dismutasa.

UQ: Ubiquinona.

O₃: Ozono

CO: Monóxido de Carbono

IC₅₀: Capacidad inhibitoria al 50 %

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo realizar el estudio fitoquímico, cuantificación de polifenoles totales y la actividad antioxidante in vitro de los extractos etanólicos al 70% de las hojas y tallos de *Piper aduncum* L. (Matico) y *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara). La metodología empleada para la obtención de los extractos etanólicos al 70% de las hojas y tallos de ambas especies vegetales, se realizó mediante maceración, el estudio fitoquímico se llevó a cabo mediante reacciones de coloración y precipitación; la cuantificación de los polifenoles totales se efectuó por el método de Folin Ciocalteu, y en cuanto a la determinación de la actividad antioxidante fue mediante el método de captación del radical libre (DPPH). En los resultados obtenidos sobre los ensayos preliminares, el porcentaje de humedad de *Piper aduncum* L. (Matico) fue de 72.55 % y de *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara) 69.84 % en promedio; para las pruebas de solubilidad mostraron que *Piper aduncum* L. (Matico) es más soluble en agua destilada y metanol, mientras que *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara) tiene mayor solubilidad en agua destilada; respecto al porcentaje de rendimiento *Piper aduncum* L. (Matico) arrojó un resultado del 17.12 % y *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara) 15.68 %. Los resultados para el estudio fitoquímico cualitativo determinaron la presencia predominante de flavonoides y fenoles en ambas especies vegetales. En la cuantificación de polifenoles totales, los resultados mostraron una concentración de 0.3503 g/ml equivalente de ácido gálico por cada 100 gramos de materia seca de *Piper aduncum* L. (Matico), y de 0.2396 g/ml equivalente de ácido gálico por cada 100 gramos de materia seca de *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara). En la determinación de la capacidad antioxidante, se obtuvo un porcentaje de inhibición de 41.41% para *Piper aduncum* L. (Matico) y 17.73 % para *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara), también se calculó IC₅₀% para ambas muestras obteniéndose 1.334 mg/mL (Matico) y 4.883 mg/mL (Sajra máscara). En conclusión, el extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L. (Matico) presentó en mayor cantidad flavonoides y fenoles frente al extracto de *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara), respecto a la cuantificación de polifenoles totales se observó que *Piper aduncum* L. (Matico) presentó 988 ug/mL eq-AG por encima de *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara). Además, *Piper aduncum* L. (Matico) demostró una capacidad superior para inhibir el radical DPPH, alcanzando un

incremento del 23.692 % en la concentración máxima (1mg/mL) del extracto en comparación *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara) respecto al IC₅₀% la muestra de Matico obtuvo un valor menor a sajra máscara lo cual indica que para inhibir el radical DPPH al 50% lo hace con una concentración menor; la relevancia de esta investigación radica en proporcionar el aporte científico para el uso de estas plantas en la medicina natural con bajo costo, así como también, para incentivar la creación de diferentes formulaciones farmacéuticas, aprovechando los metabolitos secundarios que contienen estas especies botánicas.

Palabras clave: planta, extractos, polifenoles, antioxidantes.

ABSTRACT

The objective of this research work was to carry out a phytochemical study, quantification of total polyphenols and in vitro antioxidant activity of 70% ethanolic extracts of leaves and stems of *Piper aduncum* L. (Matico) and *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara). The methodology used to obtain the 70% ethanolic extracts of the leaves and stems of both plant species was by maceration; the phytochemical study was carried out by coloring and precipitation reactions; the quantification of total polyphenols was carried out by the Folin Ciocalteu method, and the determination of antioxidant activity was by the free radical uptake method (DPPH). In the results obtained on the preliminary tests, the moisture percentage of *Piper aduncum* L. (Matico) was 72.55 % and of *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara) 69.84 % on average; for the solubility tests showed that *Piper aduncum* L. (Matico) is more soluble than *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara), and for *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara) 69.84 % on average. (Matico) is more soluble in distilled water and methanol, while *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara) has greater solubility in distilled water; regarding the percentage yield *Piper aduncum* L. (Matico) yielded a result of 17.12 % and *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara) 15.68 %. The results for the qualitative phytochemical study determined the predominant presence of flavonoids and phenols in both plant species. In the quantification of total polyphenols, the results showed a concentration of 0.3503 g/ml gallic acid equivalent per 100 grams of dry matter of *Piper aduncum* L. (Matico), and 0.2396 g/ml gallic acid equivalent per 100 grams of dry matter of *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara). In the determination of the antioxidant capacity, an inhibition percentage of 41.41% was obtained for *Piper aduncum* L. (Matico) and 17.73 % for *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara), IC₅₀% was also calculated for both samples, obtaining 1.334 mg/mL (Matico) and 4.883 mg/mL (Sajra mascara). In conclusion, the hydroalcoholic extract of *Piper aduncum* L. (Matico) presented a higher amount of flavonoids and phenols compared to the extract of *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara), with respect to the quantification of total polyphenols, it was observed that *Piper aduncum* L. (Matico) presented 988 ug/mL eq-AG above *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara). In addition, *Piper aduncum* L. (Matico) showed a superior capacity to inhibit the DPPH radical, reaching an increase of 23.692 % in the maximum concentration (1mg/mL) of the extract compared to *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra mascara)

with respect to the IC50% the Matico sample obtained a lower value than Sajra mask, which indicates that it inhibits the DPPH radical at 50% with a lower concentration.

Keywords: plant, extracts, polyphenols, antioxidants.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempo antiguos, la medicina herbaria se usó para aliviar múltiples enfermedades. Consecuencia de ello fue dando lugar al desarrollo a los fitofármacos, que en la actualidad son apreciados por su bajo costo y los reducidos niveles de toxicidad, a diferencia de los productos de origen sintéticos. En la actualidad el uso de la medicina complementaria a base de plantas medicinales se recomienda para el tratamiento de problemas de la salud. Estos tratamientos fueron incrementando gracias a los beneficios que nos brindan las plantas, puesto que continúan siendo usadas de diferentes maneras, ya sean como extractos, emplastos, cremas, etc. (1)

La organización mundial de la salud (OMS) muestra que el 80 % de la población al rededor del mundo utiliza la medicina tradicional, por lo que es necesario que las personas tengan acceso a información actualizada sobre las propiedades y beneficiosas de las plantas medicinales (2). En el Perú, las plantas medicinales conforman una fuente importante de diversidad natural, por la multitud de compuestos que se sintetizan y que en su mayoría son útiles como tratamiento alternativo para diferentes enfermedades (3).

La familia Piperácea, que se encuentra en el Perú, es una de las más reconocidas por presentar tres géneros y 830 especies. Haciendo mención, está el género *Piper*, pues estas tienen amplia diversidad de actividades biológicas, tales como: antiinflamatorios, antitumorales, antibióticos, antifúngicos, insecticidas, entre otros. Por esta razón, se realizaron investigaciones fotoquímicas, hallándose que las especies están compuestas por metabolitos de tipo flavonoide, amida, propinilfenoles, lignanos, neolignanos, kavapironas y terpenos, los cuales preceden la actividad antioxidante, cabe resaltar que algunos de estos metabolitos se encuentran en las especies vegetales *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L. (4)

La actividad antioxidante es producto de grupos de sustancias que cumplen funciones muy importantes en el organismo, como retrasar los procesos oxidativos o prevenir la formación de radicales libres. Estas sustancias actúan principalmente sobre sustratos oxidables, que pueden ser orgánicos e inorgánicos. Por ello, los antioxidantes impiden que otras moléculas se adhieran al oxígeno, evitando así la generación de Especies Reactivas de Oxígeno (EROs). (5)

El presente trabajo tiene como objetivo ofrecer un aporte científico significativo en relación con las concentraciones de polifenoles y evaluar el porcentaje de actividad antioxidante que poseen las especies vegetales.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1 Planteamiento del problema

Actualmente en todo el mundo, el tema de los radicales libres como agentes etiológicos y/o agravantes de enfermedades, es de interés de muchas especialidades y campos de la medicina, ya que permite entender la etiología de muchas enfermedades que son precedidas del desequilibrio de las concentraciones de los radicales libres en nuestro organismo; con el pasar del tiempo se desarrollaron numerosos trabajos de investigación que ponen de manifiesto la relación que existe entre el estrés oxidativo y enfermedades que aquejan a la población (6).

La organización mundial de la salud (OMS) muestra que el 80 % de la población en el planeta tiende a utilizar la medicina tradicional, por lo que es necesario que las personas tengan acceso a información actualizada sobre las propiedades y beneficios de las plantas medicinales (2). En el Perú, las plantas medicinales conforman una fuente importante de diversidad natural, por la multitud de compuestos que contienen y que en su mayoría son útiles como tratamiento alternativo para diversas enfermedades (3).

Los radicales libres acopiados proceden a oxidar los compuestos biológicos mediante reacciones químicas, en la cual participan especies reactivas, desencadenando una oxidación y peroxidación de lípidos, desnaturalización de proteínas. Así como también alterar el ADN al romper membranas celulares e inactivar enzimas, provocando de esta manera procesos de inflamación e incluso enfermedades, isquemia o hipoxia de los tejidos (7).

Otro punto a destacar es que, la oxidación química de los componentes celulares causados por estrés oxidativo e inducido por la radiación UV, da lugar a fotoenvejecimiento, causando lesiones en las células por la exposición prolongada a la radiación ultravioleta, esto desencadena una serie de respuestas moleculares que pueden dañar directamente el ADN de las células y como consecuencia el incremento de los índices de enfermedades en la piel de la población mundial (8).

En nuestro organismo, los radicales libres se producen por diferentes rutas metabólicas, pero estos son regulados por mecanismos de defensa como los antioxidantes, los cuales interactúan con estos evitando de esta manera un

desequilibrio que causaría daño irreversible a nuestras células, lo cual daría origen a enfermedades y también a una mayor aceleración del envejecimiento humano (9). Aún falta mucho por descubrir, determinar y redeterminar a la familia *Piper* en la mayoría de los herbarios del Perú (10). La población, en gran parte, desconoce la composición de los metabolitos con efecto antioxidante de familias del género *Piper*, así como el uso de estas plantas medicinales. Dicho desconocimiento podría deberse a la falta de estudios de estas mismas plantas y, en consecuencia, al no aprovechamiento del uso complementario en el tratamiento de enfermedades (11). La creciente preocupación por la salud y el bienestar ha llevado a un interés por los antioxidantes presentes en las plantas. En particular, los polifenoles son conocidos por sus propiedades antioxidantes y sus potenciales beneficios para la salud, incluyendo la prevención de múltiples enfermedades. Sin embargo, a pesar de su importancia, muchos estudios fitoquímicos aún no han explorado a fondo las especies vegetales menos conocidas, como *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L. Por lo tanto, con esta tesis se procura brindar un aporte científico que tiene la intención de establecer una base científica que justifique la incorporación de estos extractos vegetales en la medicina natural con bajo costo, resaltando así su valor terapéutico ya que con este enfoque no solo contribuirá a la valorización de los recursos botánicos locales, sino que también fomentará un mayor interés en la investigación de compuestos naturales que pueden mejorar la salud humana. Además, esta tesis tiene el potencial de abrir nuevas avenidas para el estudio y la creación de formulaciones farmacéuticas.

1.2 Formulación del problema

¿Cuál es el contenido de polifenoles y actividad antioxidante de los extractos etanólicos al 70% de *Piper aduncum* L. (“Matico”) y *Pothomorphe umbellata* L. (“Sajra máscara”)?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Realizar el estudio fitoquímico, cuantificación de polifenoles totales, y la actividad antioxidante in vitro de los extractos etanólicos al 70% de las hojas y tallos de las especies vegetales *Piper aduncum* L. ("Matico") y *Pothomorphe umbellata* L. ("Sajra máscara").

1.3.2 Objetivos específicos

1. Realizar los ensayos preliminares de análisis fitoquímico cualitativo, porcentaje de humedad, solubilidad y porcentaje de rendimiento de los extractos etanólicos al 70 %, de las especies vegetales *Piper aduncum* L. ("Matico") y *Pothomorphe umbellata* L. ("Sajra máscara").
2. Cuantificar las concentraciones de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70 % de las especies vegetales *Piper aduncum* L. ("Matico") y *Pothomorphe umbellata* L. ("Sajra máscara") utilizando el método de Folin Ciocalteu.
3. Determinar las actividades antioxidantes in vitro de los extractos etanólico al 70% de las especies vegetales *Piper aduncum* L. ("Matico") y *Pothomorphe umbellata* L. ("Sajra máscara") por el método de captación de radicales libre (DPPH).

1.4 Justificación del estudio

- **Justificación teórica:** La región del Cusco es hogar de una rica diversidad de especies vegetales que han sido ampliamente empleadas en la medicina tradicional. Sin embargo, muchas de estas especies aún no han sido estudiadas desde un enfoque científico, lo que limita la comprensión precisa de sus beneficios y la justificación de su uso para tratar diversas dolencias. La relevancia teórica de este estudio se fundamenta en la necesidad de conocer y utilizar adecuadamente las propiedades de *Piper aduncum* L. ("Matico") y *Pothomorphe umbellata* L. ("Sajra máscara"). A través de la investigación de las propiedades presentes en las hojas y tallos de estas plantas, se busca generar un conocimiento que respalde su uso en la medicina natural. Este conocimiento permitirá recomendar de manera informada y segura el uso de ambos componentes del género Piper, promoviendo así una aplicación más efectiva y adecuada de estas valiosas especies en el tratamiento de malestares (12).

- **Justificación práctica:** Con este estudio de las especies vegetales *Piper aduncum* L. (“Matico”) y *Pothomorphe umbellata* L. (“Sajra máscara”), nos permitirá cuantificar los compuestos polifenólicos presentes en ambas especies y diferenciar sus concentraciones, estableciendo así su función antioxidante en función de la presencia de flavonoides, taninos, esteroides, terpenos, fenoles, amidas, lignanos y neolignanos. Esta información será valiosa para que las personas puedan utilizar las hojas y/o tallos de estas plantas de manera informada, dirigiéndose hacia sus efectos antioxidantes o antiinflamatorios según los resultados obtenidos en la investigación (13).
- **Justificación económica:**
Según el Ministerio de Agricultura del Perú, la mayoría de las plantas exportadas provienen de la Amazonía (45%), seguidas por los Andes (39%) y la costa (16%). Una gran parte de estas especies son recolectadas directamente de su entorno natural, con 107 especies silvestres frente a solo 13 cultivadas. Además, cerca del 80% de la población peruana tiene conocimiento sobre el uso de la fitoterapia como medicina alternativa. (14)
Este estudio puede contribuir a que las plantas *Piper aduncum* L. (Matico) y *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara), sean usadas como opciones de bajo costo en la medicina natural para la población. El cultivo y comercialización de estas plantas medicinales ofrecerían a los pobladores de la zona, una fuente de ingresos sostenible, fomentando la agroindustria local. Esto incentivaría la generación de empleos en actividades como la siembra, cosecha, procesamiento y distribución, promoviendo el desarrollo económico del distrito de Santa Teresa en el Cusco. En cuanto a la industria farmacéutica puede proporcionar información importante para la creación de medicamentos innovadores y fórmulas magistrales tales como cremas, geles, ungüentos, lociones, etc. con efecto antioxidante.

1.5 Hipótesis

Los extractos etanólico al 70% de las hojas y tallos de *Piper aduncum* L. (“Matico”) y *Pothomorphe umbellata* L. (“Sajra máscara”) presentan una elevada concentración de polifenoles totales; ambos extractos presentan un efecto antioxidante elevado.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO – CONCEPTUAL

2.1 Visión histórica

La familia Piperaceae es considerada como una de las más complejas; por tal motivo, es difícil determinar el número de géneros ya que su filogenia es en la actualidad motivo de gran controversia. Las especies del género *Piper* poseen una gran importancia comercial, económica y medicinal. Según las referencias encontradas, se sabe que en el Perú las especies del género *Piper* son conocidas ampliamente por sus diferentes propiedades como son antiinflamatorios, antiséptico, antifúngicos, para dolencias digestivas y bronquiales entre otras (15).

Desde los años setenta, se intensificó las investigaciones sobre los radicales libres, así como de los antioxidantes, y con tales estudios la OMS recomendó el uso de las plantas que tienen alto contenido de flavonoides, entre estos están comprendidos frutas y verduras. A estos antioxidantes se les atribuyó efectos antiinflamatorios y analgésicos (16).

Pharmar *et al.* (1998) estudiaron las hojas de *Piper aduncum* L. colectadas en la India, es en dicho estudio que se reportaron: 2-acetoxi-1,3-dimetoxi-5-(2-propenil) benceno como un nuevo compuesto y el 2,6-dimetoxi-4-(2-propenil) fenol el cual fue aislado por primera vez (17).

En 1999, Baldoqui *et al.* (2011) investigaron las hojas del Matico colectadas en Brasil, logrando aislar dos nuevos componentes: el ácido 2,2-dimetil-2H-1-cromeno-6-carboxílico y 3-geranil-4-metoxibenzoico (18). Así mismo en las hojas colectadas en Cuba, Pino *et al.* lograron determinar al menos 66 compuestos principalmente el dillapiol encontrándose en cantidad de 82.2% (17).

En el 2021, Noorasmah Saupi *et al.* investigaron las características morfológicas y nutricionales de *Pothomorphe umbellata* L., que en la actualidad es consumida por los lugareños de la tribu indígena Kenyah de Belaga, Sarawak, Malasia. En los análisis encontraron abundante concentración de flavonoides y vitamina C, que es entre 5 y 16 veces más rica que varias verduras (19).

Paco *et al.* en 2016 estudiaron la especie vegetal *Piper pubinervulum* detectaron 44 nuevos compuestos entre ellos beta cariofileno en cuanto a la actividad antioxidante se evidencio de manera positiva (20).

El uso de plantas medicinales como parte de la terapia alternativa sigue vigente actualmente, puesto que las plantas medicinales son consideradas en los laboratorios de producción como una gran variedad de compuestos benéficos para nuestra salud, con una gran importancia terapéutica. (4) El género *Piper*, muy aparte de ser uno de los géneros con gran variedad de familias poseen metabolitos secundarios variados, que pudieron ser agrupados en 7 clases principales como son: lignanos, amidas, neolignanos, flavonoides, alcaloides y aceites esenciales. Las investigaciones han sido intensificadas en los últimos años porque muchas de las especies de este género han mostrado actividad biológica favorable para nuestra salud (21).

El uso continuo de plantas medicinales como sustitutas de la medicina farmacéutica fue usado desde la antigüedad para curar y/o aliviar enfermedades (22).

2.2 Antecedentes del estudio

2.2.1. Antecedentes internacionales

Ore Areche, Franklin; Ruiz Rodríguez, Alfonso; Ticsihua Huaman, Jovencio; Corilla Flores, Denis Dante. “*Piper aduncum* L. (Matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y Covid-19, La Paz, 2021, Artículo Científico.

EL trabajo tuvo como objetivo principal analizar las propiedades antimicrobianas del *Piper aduncum* L., para los tratamientos de prevención de la COVID- 19.

La metodología realizada se enfocó en analizar los posibles efectos de la composición química y la actividad antimicrobiana de la especie vegetal *Piper aduncum* L. para prevenir la enfermedad del Sars CoVID-19, mediante la documentación e investigaciones existentes. En este estudio, se demostró que el aceite esencial de *Piper aduncum* L. contiene una variedad de compuestos químicos, entre los que se incluyen flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y alcaloides. Estos componentes han demostrado tener propiedades antibacterianas significativas. También se observó que los flavonoides presentes en el aceite esencial de *Piper aduncum* L. muestran una notable actividad antibacteriana contra dos patógenos comunes como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Estos flavonoides exhiben una capacidad efectiva para inhibir el crecimiento y la proliferación de estas bacterias, lo que los convierte en agentes prometedores para combatir infecciones bacterianas. Finalmente, esta planta es un buen cicatrizante comercializado como producto farmacéutico. Por ende, se pudo concluir que la especie vegetal *Piper aduncum* L. cumple funciones de cicatrización, antibacteriano y antifúngico, pues la composición química ayuda solamente de manera preventiva frente a los síntomas de Covid 19 (23).

Correa Navarro Y. M., Palomino García L. R., Marino Mosquerall O. “Actividad antioxidante y antifúngica de piperaceas de la flora colombiana” Ucumari, 2015, Artículo científico.

Los objetivos del trabajo fueron evaluar la actividad antioxidante y antimicótica de los extractos de diferente polaridad, de 8 especies de *Piperáceas* colectadas en el Parque Regional Natural Ucumarí, en Colombia. En la metodología, se secaron y posteriormente se pulverizaron las hojas y tallos de especies vegetales para que a continuación se proceda a realizar la extracción con n-hexano, diclorometano y metanol. Con estos extractos se procedió a determinar la actividad antioxidante (DPPH) y antifúngica (placa perforada) y finalmente un tamizaje fitoquímico por cromatografía de placa delgada.

Los resultados demostraron que los extractos metanólicos fueron más bioactivos, y que las especies *Piper eriopodon* y *Piper crassinervium*, poseen mayor efecto actividad antioxidante y por lo contrario *Piper pesaresanum* y *Piper eriopodon* poseen mejor efecto antifúngico. En conclusión, se encontró la presencia de alcaloides, fenoles, taninos, terpenos, triterpenos, esteroides, saponinas, flavonoides, antraquinonas, lo cual nos indica que estas especies *Piper* presentan propiedades antioxidantes como antifúngicas (24).

Cuvi Cuvi, Jemberly J. “Estudio de la actividad biológica in vitro de extractos de Bixa Orellana L., Carica Papaya L., Piper Aduncum L. contra patógenos vegetales”, Ecuador, 2013, Tesis de grado.

Esta investigación tuvo como objetivo analizar la capacidad inhibitoria de los extractos de tres plantas procedente de la región amazónica las cuales son *Piper aduncum L.*, *Carica papaya L.* y *Bixa orellana L.*, frente a los hongos fitopatógenos *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Fusarium* y *Alternaria*. Las muestras de plantas fueron recolectadas en el jardín botánico de la Universidad Estatal Amazónica. La metodología utilizó un extracto hidroalcohólico al 80% se obtuvieron 2,56 gr de extracto seco de *B. orellana L.*, 5,06 gr de extracto seco de *C. papaya L.* y 5,50 gr de extracto seco de *P. aduncum L.* La actividad antifúngica de los extractos fue evaluada sobre 4 hongos fitopatógenos. En conclusión, el extracto de *Piper aduncum L.* posee mejor actividad antifúngica frente a todos los hongos en estudio del presente trabajo de investigación en comparación de los demás extratos (25).

Puertas Mejía M.; Gómez Chabalall L.; Rojanoll Benjamín; Sáez Vega J. A. “Capacidad antioxidante in vitro de fracciones de hojas de *Piper peltatum* L.” Medellín, 2009, Artículo Científico.

El trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante de extractos no alcohólicos obtenidos de las hojas de *P. peltatum* L. Dentro de la metodología usada, se secaron y pulverizaron hojas de la especie, para luego ser sometidas a cromatografía en columna, donde se obtuvieron 3 fracciones. En lo que concierne al potencial antioxidante, se determinó mediante dos métodos: la capacidad reductora medida por el ensayo de FRAP y método del radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). En los resultados la fracción 1 fue la más prometedora, teniendo un resultado de inhibición del radical DPPH: 75% y 68% para el ensayo de FRAP, Finalmente se demostraron que todas las fracciones evaluadas poseen propiedades antioxidantes, demostrando que el uso tradicional de *P. peltatum* es eficaz para el tratamiento de diversas afecciones cutáneas y otras enfermedades, respaldando su valor en la medicina popular. (26).

2.2.2. Antecedentes nacionales

Gil Padilla Yusbel Leticia “Actividad antioxidante y contenido de polifenoles del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico)” Chimbote, 2019, Tesis de grado.

El trabajo tuvo como objetivos determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en un extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico). Dentro de la metodología, se preparó un extracto metanólico al 80 % de las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico). Para determinar la actividad antioxidante, se usó el método del radical DPPH y se usó trolox como patrón de referencia, para el contenido de polifenoles se aplicó la técnica de Folin Ciocalteu, usando como patrón la catequina. Dentro de los resultados el contenido de polifenoles fue equivalente a 31.94 ± 1.18 mg de catequina por 1 g de muestra seca, respecto a la actividad antioxidante fue equivalente a una concentración de 66.03 ± 5.87 mM de Trolox por 1g de muestra seca. Finalmente, se concluye que los resultados indican que las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) presentan buena cantidad de polifenoles y una actividad antioxidante notable (5).

López Horna Perla “Estudio de las Características Fisicoquímicas y Fitoquímicas de las Hojas de *Piper Acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico)” Trujillo, 2018, tesis de grado.

El estudio tuvo por objetivo establecer las características fisicoquímicas y fitoquímicas de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

La metodología contempló el diseño de una casilla, y se recolectó ejemplares de las hojas de *Piper acutifolium*. La escala de medición fue la cuantitativa de razón y la cualitativa nominal. Los resultados evidenciaron que existe presencia de aminoácidos, aminas, triterpenos, azúcares reductores, flavonoides, resinas, taninos y alcaloides en la hoja de *Piper acutifolium*. En conclusión, se consiguió identificar las características fisicoquímicas y fitoquímicas de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) (27).

Avalos Capristán César Luis “Efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* L. en la inflamación inducida en *Rattus var. norvegicus*” Trujillo, 2016, Tesis de grado.

El trabajo de investigación tuvo como objetivo principal hallar el efecto que presente un gel elaborado a partir del de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* en la inflamación producida en *Rattus var. norvegicus*. (28) Respecto a la metodología, se formó 5 grupos: un control, un patrón y 3 grupos tratados con el gel de extracto etanólico a concentraciones de 1%, 2% y 4%, para ello, se indujo una inflamación inyectando 1 mL de solución de carragenina al 1% en la zona sub plantar de la pata posterior derecha, y posteriormente se aplicó vía tópica los geles preparados con el extracto etanólico, usando un pletismógrafo para poder medir la respuesta a los grupos problema. Como un fármaco control, se empleó diclofenaco en gel de para poder comparar los resultados (28).

Los resultados mostraron que el gel elaborado a partir del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum* mostró un efecto antiinflamatorio a las diferentes concentraciones estudiadas frente a la inflamación inducida en ratones de raza *Rattus rattus var. norvegicus*. En conclusión, el efecto antiinflamatorio observado podría atribuirse a la elevada concentración de flavonoides presentes en las hojas de *Piper aduncum* (28).

Soto Vásquez Marilú Roxana “Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas” Trujillo, 2015, Artículo científico.

Esta investigación tuvo como objetivo principal efectuar el estudio fitoquímico y determinar la concentración de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas. Dentro de la metodología, primero se recolectaron las especies del distrito de Río Santiago, provincia de Condorcanqui, región de Amazonas. Luego, se realizó un análisis fitoquímico, para la determinar los flavonoides totales se realizó con el método de Kostennikova. Los resultados mostraron una alta diversidad de metabolitos de las dos especies, tales como alcaloides, triterpenos, esteroides, flavonoides, fenoles y taninos, azúcares reductores, quinonas, compuestos grasos, cumarinas y resinas. En el caso de *Piper aduncum* L. se determinó la presencia de saponinas. Los flavonoides totales en las especies de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. fue de $1,8 \pm 0,16$ y $2,51 \pm 0,15$ g equivalentes a quercetina por 100 g de hoja seca, respectivamente. Finalmente, *Piper aduncum* L. presentó mayor concentración de flavonoides expresados como quercetina (4).

Placencia Medina Maritza Dorila: “Evaluación farmacológica de *Buddleia globosa* ("Matico") en el tratamiento de úlcera gástrica inducida en animales de experimentación” Lima, 2001, tesis de Maestría.

El estudio tuvo por objetivo evaluar farmacológicamente la *Buddleia globosa hoppe* ("Matico") en el tratamiento de úlceras gástricas inducidas en animales de experimentación. La metodología comprendió la marcha fitoquímica, recolectaron muestras en los campos de Quilpue en Santiago de Chile, usándose solo las hojas que posteriormente serian molidas para su maceración hidroalcohólica al 70 %. La recolección se realizó en las primeras horas de la mañana. Se empleó la Técnica del Concentración Mínima Inhibitoria.

Los resultados del extracto arrojo la presencia de alcaloides, taninos, flavonas e isoflavonas, por lo que se puede concluir que podrían ser los responsables de la actividad antiulcerosa ya que se ha demostrado que *Buddleja gobosa* posee un notable efecto antiulceroso. Por otro lado, se evidenció un efecto relajante del musculo liso, lo que resalta su potencial terapéutico (29).

Alvarado Santillán Gingler “Actividad antioxidante y determinación de fenoles de extractos de matico (*Piper sp.*) en diferentes altitudes del distrito de Levanto, Amazonas”, Chachapoyas, 2019, Tesis de grado.

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antioxidante y el contenido de fenoles en extractos de matico (*Piper sp.*) recolectados en diferentes altitudes del distrito de Levanto, Amazonas. La metodología incluyó la preparación de tres tipos de extractos (acuoso, etanólico y metanólico) a partir de hojas recolectadas en tres altitudes distintas. La actividad antioxidante se evaluó mediante la técnica DPPH, basada en la captura del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, y el contenido de polifenoles totales se determinó utilizando el método de Folin-Ciocalteu. Los resultados mostraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en función de la altitud y el tipo de extracto analizado. Finalmente se observa que a mayor altitud mayor actividad antioxidante y dentro de los extractos realizados el mejor fue el extracto acuoso frente a los otros extractos alcohólicos que se realizaron (30).

2.2.3. Antecedentes locales

Ferchau Karina V., Tejada Magaly V., Ferchau Ingrid V., Cardona Rivero A. “Actividad Antibacteriana y Citotoxicidad de Cinco Especies Vegetales de la Zona Altoandina y Amazónica de la Región del Cusco” Cusco, 2021, Artículo científico.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana y la citotoxicidad de las especies *Acicarpha tribuloides* Jussieu (Estrella Kisca), *Gamochaeta spicata* (Queto-Queto), *Minthostachys glabrescens* (Bentham) Epling (Muña), *Muehlenbeckia volcanica* (Bentham) Endlicher (Mullaca) y *Piper elongatum* M. Vahl (Matico), provenientes de las zonas altoandina y amazónica de la región del Cusco, Perú. En la metodología, se prepararon extractos etanólicos, la actividad antibacteriana se determinó analizando la concentración mínima inhibitoria (CMI), empleándose el método de macrodilución en medio líquido y cepas ATCC de *Escherichia coli* 25922, *Staphylococcus aureus* 29213, *Streptococcus pneumoniae* 49619 y *Salmonella typhimurium* 14028. La toxicidad se evaluó mediante el ensayo de *Artemia salina*. Los resultados indicaron que los extractos de *Estrella Kisca* y *Queto-Queto* presentaron alta toxicidad en el ensayo de *Artemia salina*, con valores de CL50 de 19.639 y 58.104, respectivamente (31).

2.3. Bases Teórico Científicas

2.3.1. Farmacobotánica

2.3.1.1. Familia Piperaceae y género Piper

La familia Piperaceae es considerada una de las más complejas y diversas entre las angiospermas basales, en la actualidad es motivo de grandes controversias (32). Para algunos autores, incluye 14 géneros y alrededor de 1950 especies, ampliamente distribuidas en ambos hemisferios. Entre ellas están plantas herbáceas, arbustivas, algunas veces trepadoras y árboles (18).

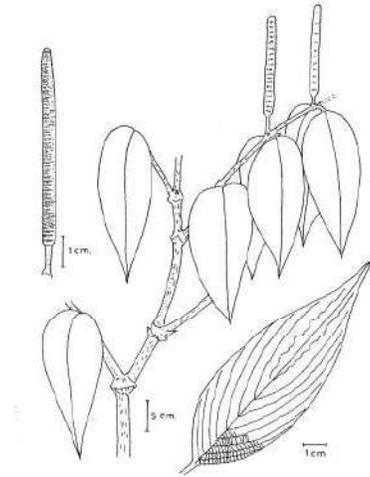
2.3.1.2. Descripción botánica

En *Piper aduncum* L., las ramas presentan un color verde amarillento, con un ligero patrón en zigzag, cubiertas de finos pelos y con nudos anillados y prominentes. Sus hojas son estrechas, elípticas, de punta alargada, asimétricas en la base, algo ásperas en la parte superior, con venas laterales largas y ligeramente curvas. Además, son aromáticas, liberando un olor especiado al triturarlas. Las flores y frutos son diminutos, agrupados en un eje parecido a un cordón curvado y lateral (33).

En cuanto a *Pothomorphe umbellata* L. es una planta con hojas grandes y delgadas, de forma ovado-circular y no peltadas. Sus inflorescencias consisten en varias espigas agrupadas en la punta de un pedúnculo corto (34).

2.3.1.3. Clasificación taxonómica

Figura 1: *Piper aduncum* L. (“Matico”)



Fuente: Mejía *et al.*, (2000) (35)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae

Género: Piper

Especie: *Piper aduncum* L.

Figura 2: *Pothomorphe umbellata* L. (“Sajra máscara”)



Fuente: Taylor. (2006) (36)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae

Género: Piper

Especie: *Pothomorphe umbellata* L.

2.3.1.4. Hábitat

Piper aduncum L, y *Pothomorphe umbellata* L., crecen en México, América Central, América del Sur y las Antillas; aunque se ha naturalizado en otras regiones como Indonesia, Malasia, Filipinas y en islas del Océano Pacífico. En Papua, Nueva Guinea, se le considera las plantas invasoras de mayor importancia (33). En el Perú es común ubicarlos en bosques secundarios. Amazonas, Ayacucho, Cuzco, Huánuco, Junín, Loreto, Madre de Dios, San Martín, Ucayali (35).

2.3.1.5. Composición química

En el Matico se han identificado heterósidos feniletanoides, flavonoides y terpenoides. Las hojas, tallos y partes leñosas contienen gran cantidad de los iridiodes como aucubina y catalpol y diversos flavonoides. En las flores se han identificado los triterpenoides, flavonoides como luteolina, hidroxiluteolina y el condriasterol (37).

El género *Piperaceae* contiene una gran cantidad de metabolitos secundarios, incluidos flavonoide, propenilfenoles, amida, lignanos, kavapironas, neolignanos, taninos, saponinas, glicósidos, terpenoides, y otros compuestos fenólicos, que están presentes principalmente en hojas, semillas y tallos. El género *Piper* es reconocido en el ámbito de la medicina alternativa por sus propiedades farmacológicas (35).

Gracias a diferentes estudios realizados de este género *Piper* se han logrado evidenciar la presencia de diferentes componentes o metabolitos secundarios, como son: amidas, lignanos, neolignanos, terpenos y flavonoides. Los flavonoides de mayor abundancia en el género *Piper* son chalconas, dihidrochalconas, flavanonas y algunas flavonas (38).

2.3.1.6. Nombres Comunes de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L. (*Pothomorphe umbellata* L.)

Piper aduncum L. es conocido popularmente como Matico, falso jaborandi, aperta-ruão y cordoncillo (39) (36). *Pothomorphe umbellata* L. también es conocido como Sajra máscara, así mismo conocido con el nombre común de “Santa María”. En las zonas amazónicas de la selva peruana tiene el nombre común de “Corarnopan” o “mueretspan popnor” (40).

2.3.1.7. Formas de uso

Piper aduncum L. tiene múltiples usos como antiinflamatorio, antitusígeno y antiséptico. Además, tiene propiedades astringentes y presenta usos muy frecuentes para detener hemorragias y aliviar úlceras. Esta especie vegetal tiene propiedades conocidas como antioxidante, hepatoprotectoras, antifúngicas. Según diversos estudios, los péptidos activos y proteínas derivadas de esta planta tienen efectos beneficiosos para la cicatrización y curación de heridas agudas y crónicas (37).

En cuanto *Pothomorphe umbellata* L. las hojas se han usado ancestralmente en infusiones para dolencias infecciosas e inflamatorias. También hay registros de que los extractos y compuestos puros derivados de distintas partes de dicha planta tienen una variedad amplia de acciones farmacológicas, tales como actividades

antibacterianas, antioxidantes, antifúngicas, antiaterogénicas, citotóxicas, analgésicas, antiinflamatorias, entre otras (40).

2.3.2. Acciones farmacológicas

2.3.2.1. Efecto cicatrizante

Varios compuestos de *Piper aduncum* L. ("Matico"), desempeñan un papel muy importante en procesos de cicatrización, específicamente en la fase de regeneración. Estos compuestos estimulan la proliferación de los fibroblastos, lo que a su vez acelera y facilita el proceso de cicatrización en situaciones de inflamación (37).

2.3.2.2. Efecto antimicrobiano y antifúngico

Piper aduncum L. posee actividad antimicrobiana gracias a un compuesto propio de la planta, el verbascósido, ya que inhibe la síntesis proteica al bloquear la entrada de leucina en *Staphylococcus aureus*. Además, presentan actividad antifúngica *Trychophyton* y *Epidermophyton*, destacándose compuestos como buddlejona, maytenona, buddelinas A y B, deoxibuddlejona (37).

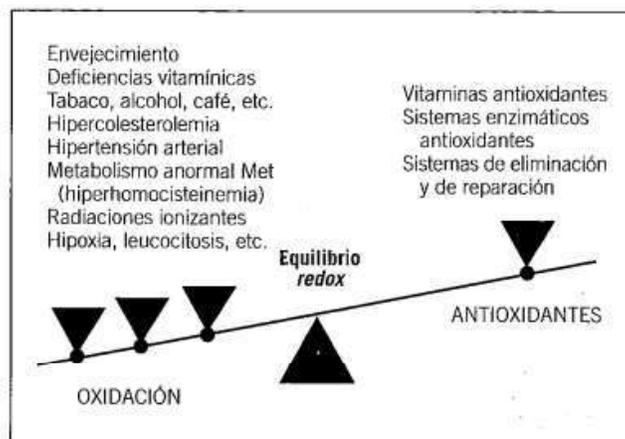
2.3.2.3 Efecto antioxidante

a. Estrés oxidativo en la salud humana

Los organismos aerobios cuentan con mecanismos específicos para neutralizar los radicales libres, que se generan de forma continua en el metabolismo, aunque en pequeñas cantidades. Las células disponen de sistemas enzimáticos complejos y compuestos químicos secuestradores que actúan para prevenir el daño oxidativo, asegurando así la integridad celular y el correcto funcionamiento de los procesos metabólicos. El desbalance entre oxidantes y antioxidantes se ha relacionado con una serie de enfermedades y con el proceso de envejecimiento. De hecho, múltiples patologías, como la arteriosclerosis, cáncer, Alzheimer, diabetes mellitus, las enfermedades autoinmunes y las enfermedades inflamatorias crónicas, están asociadas con este desequilibrio (41).

Los radicales libres pueden causar daños irreversibles por que pueden alterar el ADN celular lo cual desencadenaría un daño tisular y posteriormente muerte celular. Todo este evento es causado por un potencial desequilibrio entre los radicales libres, que son producidos por nuestro organismo, ya sea por medio de estímulos o no, y los antioxidantes de origen endógeno y/o exógenos. Cuando se rompe este balance es donde se desencadena todo el evento mencionado anteriormente (42).

Figura 3: Equilibrio redox fisiológico resultado del balance entre los mecanismos de oxidación y los sistemas antioxidantes celulares, (met: metionina)



Fuente: Garay *et al.* (2015) (43)

b. Especies oxidantes y radicales libres

Se considera radical libre (RL) aquella molécula que, en cuya estructura atómica posee un electrón desapareado en su último nivel de energía. Como consecuencia, posee una configuración altamente inestable y reactiva (41). Mediante una rápida propagación, puede causar un daño a más de un millón de moléculas mediante una serie de reacciones en cadenas. Los compuestos resultantes de estas reacciones forman parte de las llamadas especies reactivas de oxígeno (ERO) o reactive oxygen species (ROS) (44).

Los radicales libres, debido a su alta reactividad y corta vida media, actúan principalmente en las proximidades de sus sitios de formación. Se generan a través de varios mecanismos biológicos, incluyendo la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, así como en reacciones de oxidación. Estos radicales libres causan daño celular al interactuar con las principales biomoléculas del organismo (45).

Figura 4: Nomenclatura de las principales especies reactivas del oxígeno (ERO)

Radicales		No radicales	
Hidroxilo	$\cdot\text{OH}$	Peróxidos orgánicos	ROOH
Alcoxilo	$\text{RO}\cdot$	Oxígeno singlete	$^1\text{O}_2$
Hidroperoxilo	$\text{HOO}\cdot$	Peróxido de hidrógeno	H_2O_2
Superóxido	$\text{O}_2^{\cdot-}$	Ácido hipocloroso	HClO
Peroxilo	$\text{ROO}\cdot$	Ácido nitroso	HNO_2
Óxido nítrico	$\text{NO}\cdot$	Catión nitrilo	NO_2^+
Dióxido de nitrógeno	$\text{NO}_2\cdot$	Peroxinitrito	ONOO^-
		Ácido peroxinitroso	ONOOH
		Alquil peroxinitritos	ROONO
		Ozono	O_3
		Ácido hipobromoso	HBrO

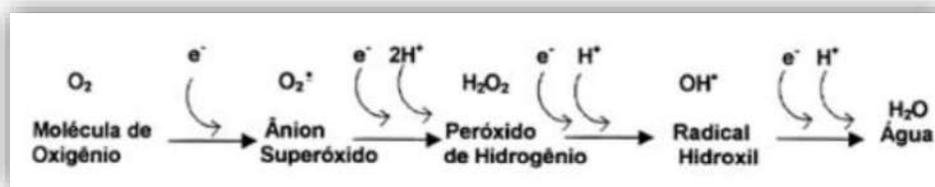
Fuente: García A. (2003) (46)

c. Fuentes de radicales libres

Los radicales libres pueden originarse a partir de reacciones redox mediadas por enzimas como NADPH+, lipooxigenasa, ciclooxigenasas y peroxidasa. También tienen fuentes endógenas, como las oxidaciones microsomales, los fagosomas, la autooxidación de sustratos y la actividad de los neutrófilos (42).

Además de su origen endógeno, las especies oxidantes también pueden generarse por factores exógenos como la radiación solar, toxinas fúngicas, pesticidas y xenobióticos, que aumentan su concentración. Aunque la mayor parte del oxígeno celular se convierte en agua sin intermediarios tóxicos, alrededor del 5% produce tres intermediarios altamente tóxicos, entre ellos los radicales libres anión superóxido e hidroxilo (47).

Figura 5: Esquema de producción de especies activas de oxígeno

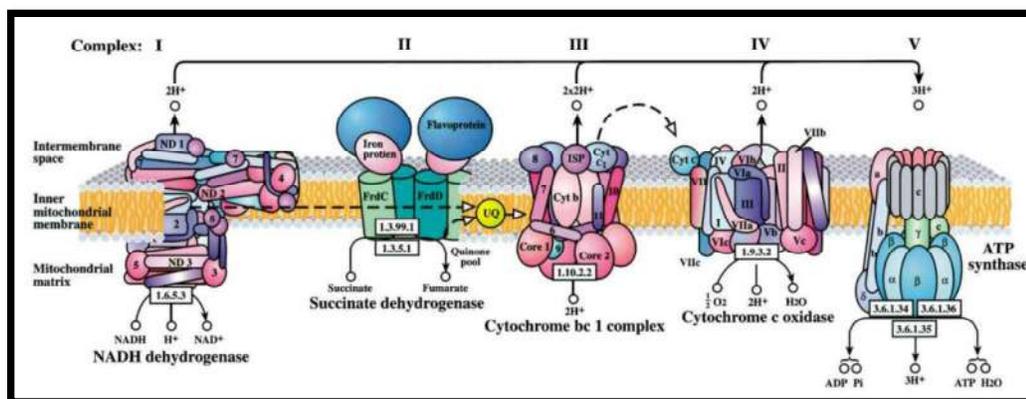


Fuente: Constanza *et al.*, (2012) (48)

c.1. Fuente Endógena de Radicales Libres.

- ✓ **Mitocondrias:** El metabolismo oxidativo se da en la mitocondria, puesto que es el organelo de mayor importancia en la formación de ATP. Además, es considerada como la principal fuente de radicales libres, ya que, al producirse el metabolismo oxidativo, se da la reducción tetraelectrónica del oxígeno, con un consumo del 95 al 98% de este elemento (48).

Figura 6: Formación de EROS vía complejos de cadena respiratoria



Fuente: Constanza *et al.*, (2012) (48)

El gráfico presentado ilustra la cadena de transporte de electrones en los mamíferos, que se desarrolla a través de los complejos I a V. En este proceso, los electrones fluyen desde NADH o succinato hacia el complejo I o II, respectivamente, y luego se transfieren a la ubiquinona (UQ). Posteriormente, los electrones se mueven desde la ubiquinona a través de los complejos III y IV, llegando al receptor final, que es la molécula de oxígeno. Este flujo de electrones está acoplado al movimiento de protones a través de la membrana interna en los complejos I, III y

IV. Como resultado, se genera un gradiente de protones que es aprovechado por el complejo V para la producción de ATP (49).

- ✓ **Peroxisomas**: Estos organelos celulares al igual que los gliosomas (organelos encargados de hacer el ciclo del glioxilato), poseen altas concentraciones de catalasa, que convierten al H_2O_2 en H_2O y O_2 (48).
- ✓ **Citocromo P450**: Ubicado en el retículo endoplasmático, este sistema es un importante generador de radicales libres. Su función principal es catalizar reacciones que generan O_2 mediante mecanismos dependientes de NADPH. Este sistema, que contiene citocromos, presenta las condiciones ideales para la producción de radicales libres debido a la presencia de iones de metales de transición, oxígeno y la transferencia de electrones. Las enzimas en este complejo son responsables del metabolismo oxidativo de xenobióticos y sustratos de oxígeno, entre los cuales destacan los fármacos terapéuticos y productos químicos (48).
- ✓ **Fagocitosis**: Durante el proceso de fagocitosis, se generan especies reactivas de oxígeno (ERO) que son beneficiosas para el organismo, ya que este es el principal mecanismo de defensa contra los patógenos. En las células fagocíticas, como los leucocitos polimorfonucleares, se activa una "explosión" oxidativa mediante mediadores proinflamatorios o la presencia de productos bacterianos, víricos o parasitarios. Esta reacción produce una gran cantidad de radicales como $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot} y NO^{\cdot} , que tienen como objetivo destruir las células infectadas (48).

c.2 Fuente exógena de radicales libres

Existen factores externos que favorecen la formación de los radicales libres, tales como la exposición a rayos X, a contaminantes del aire y productos químicos industriales, además de ciertos medicamentos que promueven la producción de ERO (48).

d. Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que pueden retrasar o inhibir la oxidación, neutralizando los efectos perjudiciales de los radicales libres. Una mayor concentración de los antioxidantes en el organismo podría ayudar a proteger contra el daño celular y el desarrollo de patologías crónicas (50).

Los antioxidantes se dividen en dos categorías que son: naturales y sintéticos:

❖ **Los antioxidantes naturales:** se encuentran presentes en frutas y verduras son esenciales para la salud debido a su capacidad para prevenir o retardar la oxidación de materiales oxidables como lípidos, proteínas, ADN y carbohidratos. Se clasifican en dos categorías principales (51):

- **Antioxidantes enzimáticos:**

✓ **Enzimas primarias:** Superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa.

✓ **Enzimas secundarias:** Glutatión reductasa y glutatión S-transferasa.

- **Antioxidantes no enzimáticos:**

✓ **Minerales:** Selenio, zinc, cobre y manganeso.

✓ **Vitaminas:** Vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles).

✓ **Carotenoides:** Betacaroteno, licopeno, luteína.

✓ **Compuestos sulfurados:** Alil sulfuros en el ajo y la cebolla.

✓ **Compuestos de bajo peso molecular:** Ácido lipoico, ubiquinona (CoQ10).

✓ **Cofactores:** Moléculas que ayudan a las enzimas antioxidantes en sus funciones.

✓ **Polifenoles:** Flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos (51).

❖ **Los antioxidantes sintéticos:** son compuestos químicos que se producen artificialmente para prevenir la oxidación en diversos productos, desde alimentos hasta productos farmacéuticos y cosméticos. Algunos de los antioxidantes sintéticos más comunes incluyen:

- **Butilhidroxitolueno (BHT):** Utilizado principalmente en la industria alimentaria para prevenir la rancidez de las grasas y aceites.

- **Butilhidroxianisol (BHA):** Similar al BHT, se utiliza en alimentos, embalajes y productos cosméticos para evitar la oxidación.

- **Propilgalato:** Usado en combinación con BHT y BHA para proteger los aceites y grasas en alimentos.

- **Tert-butilhidroquinona (TBHQ):** Un derivado del BHA, se usa para preservar la estabilidad de las grasas y aceites en alimentos procesados (51).

- **Ácido ascórbico (vitamina C):** Aunque también es un antioxidante natural, se puede sintetizar para su uso en alimentos y suplementos dietéticos (51).
- **Tocoferoles sintéticos (vitamina E):** Utilizados en alimentos y productos cosméticos para prevenir la oxidación (51).

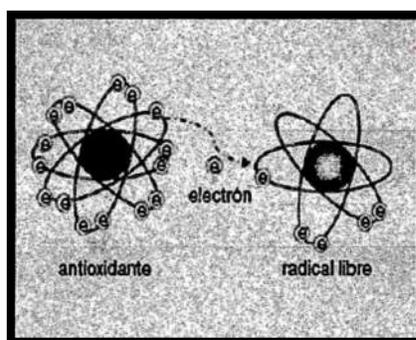
d.1. Características de los antioxidantes

Entre las funciones características de los antioxidantes se encuentra la capacidad de prevenir o interrumpir la cadena de propagación oxidativa al estabilizar los radicales libres generados. Además, los antioxidantes tienen la capacidad de regenerarse, lo que ayuda a reducir el daño oxidativo en las células (52).

Los lípidos de las membranas forman una barrera que impide el movimiento de agua y sustancias hidrosolubles entre los compartimentos celulares, dado que el agua no es soluble en lípidos (53). Es por esto que los antioxidantes deben poseer diferentes cualidades de solubilidad, dependiendo del lugar donde van a ejercer su acción. Por ejemplo, la vitamina E es soluble en grasas y carotenoides, mientras que otros antioxidantes pueden ser solubles en agua, como la vitamina C (52).

También encontramos al β -caroteno que neutraliza al oxígeno singulete; así como la vitamina E es el principal protector de las LDL, interrumpiendo su degradación en cadena, y la vitamina C puede proteger frente a los tóxicos del humo del cigarrillo (52).

Figura 7: Donación de un electrón por parte de un antioxidante a un radical libre.



Fuente: Juli *et al.*, (2011) (52)

e. Sistema de defensa antioxidante

A lo largo de su evolución, el cuerpo humano ha desarrollado diversos mecanismos de defensa contra los radicales libres. Estos radicales intentan prevenir, retardar o detener la reacción de oxidación en cadena causada por un radical libre, además de reparar o

eliminar las macromoléculas dañadas. Por esta razón, se pueden dividir en dos sistemas de defensa:

- **El enzimático** es considerado como la primera línea de defensa. Las enzimas que trabajan en conjunto mantienen el equilibrio redox celular y así logran proteger contra el daño oxidativo. También se puede mencionar que la coordinación de estas enzimas es esencial para la defensa antioxidante del organismo y para prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo ERO (54) (48).

- **El no enzimático** es considerado la segunda barrera de defensa y actúan dentro y fuera de la célula, se presentes en la dieta diaria, conocidos como antioxidantes dietéticos. Estas sustancias están presentes en alimentos de consumo cotidiano, tienen la capacidad de contrarrestar las especies reactivas y proteger las funciones fisiológicas. Entre los antioxidantes dietéticos bien establecidos se encuentran la vitamina C, vitamina E, carotenoides y selenio, mientras que otros, como los polifenoles, también muestran actividad antioxidante (44) (52).

En cuanto a la alimentación, es preferible ingerir antioxidantes que sean solubles tanto en agua que en grasa (5).

Los mecanismos secundarios de antioxidación pueden incluir la desactivación de metales, la inhibición de los hidroperóxidos lipídicos, la regeneración de antioxidantes primarios y la eliminación del oxígeno singulete, entre otros (52).

2.3.2.4. Antioxidantes de origen vegetal

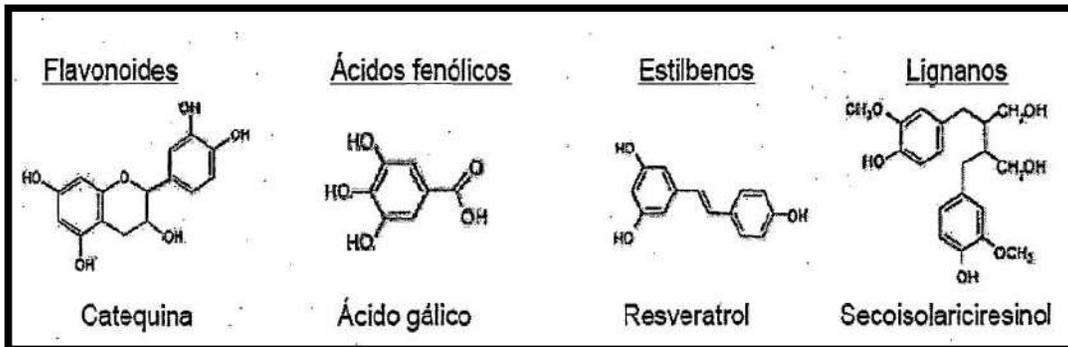
a. Polifenoles

Entre los antioxidantes también podemos encontrar algunos principios activos, como los polifenoles (44). Estos son un grupo de moléculas heterogéneas que tienen como característica en su estructura, varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas (5). Estos son capaces de barrer con los radicales libres gracias a su capacidad de donar electrones y átomos de hidrógeno, además poseen actividad inmunomoduladora (55). Se les puede dar algunos usos comunes, como la acción de ser vasodilatadores y vasos protectores, además de antitrombóticos, antilipémicos o antiescleróticos (44).

Dentro de los polifenoles, encontramos a los flavonoides que presentan funciones antioxidantes y atrapadoras de radicales libres, lo que se traducen en acciones anti carcinogénicas. Los compuestos fenólicos o polifenoles son sustancias químicas, considerados como metabolitos secundarios de las plantas (52).

La capacidad antioxidante descrita por distintos polifenoles, se puede considerar como la actividad biológica responsable del efecto preventivo que se les atribuye sobre determinadas enfermedades (52).

Figura 8: Tipos y estructuras químicas de algunos polifenoles.



Fuente: Juli *et al.*, (2011) (52)

Los antioxidantes bloquean la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) in vivo y muestran una capacidad protectora superior al α -tocoferol en la inhibición de esta oxidación (5). Además, pueden reducir la actividad de la HMG-CoA reductasa in vivo (56).

- **Acción neuro protectora:** Los polifenoles tienen la capacidad de proteger las células del sistema nervioso frente a inductores del estrés oxidativo como la proteína β -amiloide, la cual se acumula en las neuronas durante la enfermedad de Alzheimer. Estos compuestos proporcionan neuroprotección a las neuronas dopaminérgicas (NDA) mediante diversas vías de señalización que reducen la formación de citocinas proinflamatorias y la apoptosis (55).
- **Acción Antiinflamatoria:** Poseen la capacidad antiinflamatoria a través de la inhibición de las enzimas ciclooxigenasa (COX-2) y lipooxigenasa, implicada en la cascada inflamatoria del ácido araquidónico (56).
- **Acción Antialérgica:** Los polifenoles actúan en la prevención y manejo de pacientes con dermatitis atópica y manifestaciones alérgicas cutáneas, reduciendo la inflamación y el prurito en la piel. Además, su consumo parece aliviar las manifestaciones alérgicas respiratorias al inhibir la respuesta Th2 (56).

a.1) Clasificación de los compuestos fenólicos

La naturaleza de los polifenoles puede variar desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos polimerizados, como son los taninos, en su mayoría suelen estar unidos a glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, ácido glucorónico y galactorónico. Se clasifican en cuatro familias en función del número de anillos fenólicos y de los elementos estructurales unidos a esos anillos flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos (52).

a.2) Actividad biológica de los compuestos polifenólicos

Los efectos útiles para la salud de los compuestos polifenólicos radica en su potencial antioxidante. Como, por ejemplo, los taninos que poseen posibles efectos en la prevención del timpanismo o meteorismo animal, también que evitan prevalencia de enfermedades cardiovasculares principalmente a la reducción en los niveles de triglicéridos, colesterol y LDL-colesterol en plasma, y la inhibición de la agregación plaquetaria. Otros estudios con roedores han demostrado que el uso de extractos de especias con contenido de polifenoles tiene efectos quimioprotectores, además de una actividad antiinflamatoria (57).

2.3.3. Método de determinación de la actividad antioxidante y cuantificación de polifenoles totales

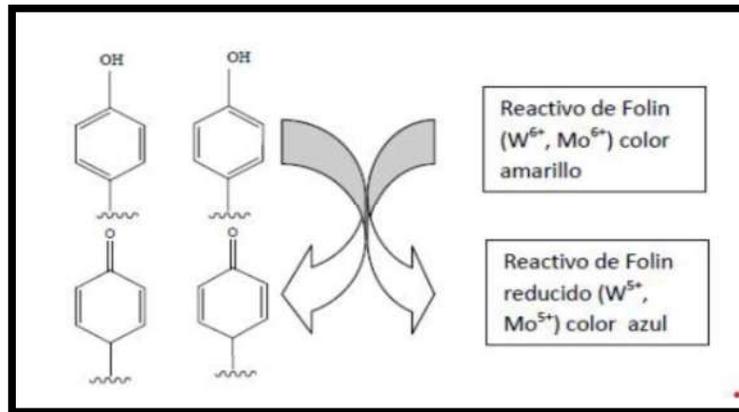
2.3.3.1. Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil)

El DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) es un radical libre que tiene una estructura química estable, lo que significa que no se descompone fácilmente en condiciones normales (52). La molécula de DPPH en disolución metanólica presenta un color violeta intenso con una fuerte absorción a 515 nm. Cuando se mezcla con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno (antioxidante), el DPPH• se reduce con la pérdida del color violeta, tornándose de violeta a un amarillo pálido (58).

2.3.3.2. Método Espectrofotométrico de Folin- Ciocalteu

El método de **Folin-Ciocalteu** se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin-Ciocalteu a pH básico, lo que produce una coloración azul que puede ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm (46). La pérdida de coloración es por reducción ocasionada por los fenoles que reducen al reactivo de Folin-Ciocalteu (59).

Figura 9: Reacción química del reactivo Folin Ciocalteu con cambio de coloración



Fuente: Garcia *et al.*, (2001) (46)

2.4. Glosario de términos

- EROs:** Las especies reactivas del oxígeno son compuestos que se generan principalmente en la mitocondria durante los procesos metabólicos, mediante reacciones de oxidación-reducción que tienen lugar en los complejos de transferencia de electrones. En estos procesos, el oxígeno actúa como el último aceptor de electrones (60).
- Radical Libre:** Son átomos o grupos de átomos que poseen un electrón desapareado lo cual los hace moléculas reactivas, pero para alcanzar la estabilidad captan un electrón de moléculas estables electroquímica (47).
- Antioxidante:** Son considerados sustancias que pueden retrasar o inhibir la oxidación neutralizando los efectos perjudiciales de los radicales libres. La mayor concentración de los antioxidantes en el organismo podría ayudar a proteger contra el daño celular y el desarrollo de patologías crónicas (50).
- Fagocitosis:** Es un proceso de endocitosis en las células donde tienen la capacidad de captar y comer agentes patógenos, fragmentos celulares mediante un mecanismo de adhesión formando así el fagosoma para posteriormente destruirla (61).

- e) **Estrés oxidativo:** Es un proceso bioquímico de pérdida de electrones, pero cuando la oxidación es excesiva se presenta el estrés oxidativo (62).
- f) **DPPH:** 2,2-difenil-1-picrilhidracil es un radical libre constante que puede conseguirse directamente sin una preparación previa, además de ser muy estable en un medio orgánico (52).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1. Material botánico

Especies Vegetales del género Piper de nombre científico *Piper aduncum* L. “Matico”, *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara” y perteneciente a la provincia de la Convención, Quillabamba.

3.1.2. Materiales de campo

- ❖ Papel Craf
- ❖ Papel Periódico
- ❖ Cuaderno de campo
- ❖ Cámara Digital
- ❖ Alcohol de 70°
- ❖ Machete
- ❖ Caja de Tecnopor
- ❖ Planchas de Cartulina
- ❖ Repelente
- ❖ Atomizador
- ❖ Botas de Jebe
- ❖ Sombreros
- ❖ Equipo de Protección Personal

3.1.3. Materiales de escritorio

- ❖ Computadora con Software
- ❖ Cámara del Celular
- ❖ Impresora Canon G3130
- ❖ Papel Bond

3.1.4. Materiales de laboratorio

- ❖ Crisoles de porcelana
- ❖ Envase de vidrio color ambaro
- ❖ Mortero de porcelana
- ❖ Embudo de vidrio

- ❖ Papel Filtro
- ❖ Papel Aluminio
- ❖ Tamizador
- ❖ Tubos de ensayo de 5ml, 10 ml,
- ❖ Vaso de Precipitación
- ❖ Pinzas para tubos de ensayo
- ❖ Pipetas de 10ml, 5ml, 1ml
- ❖ Gradillas
- ❖ Mecheros
- ❖ Pissetas
- ❖ Micropipeta de 100 μ L y 1000 μ L
- ❖ Fiolas de 10 ml, 25 mL y 100 mL
- ❖ Puntas para las micropipetas

3.1.5. Equipos de laboratorio

- ❖ Estufa
- ❖ Espectrofotómetro
- ❖ Balanza Analítica
- ❖ Vortex
- ❖ Baño isotérmico
- ❖ Centrífuga

3.1.6. Reactivos

- ❖ Alcohol 70°
- ❖ Agua destilada
- ❖ Etanol 40 %
- ❖ Etanos 70%
- ❖ Etanol absoluto
- ❖ Acetona
- ❖ Éter
- ❖ Metanol
- ❖ Reactivo Dragendorff
- ❖ Reactivo de Baljet
- ❖ Reactivo de Folin Ciocalteu
- ❖ Reactivo DPPH
- ❖ Reactivo de Fehling A y B

- ❖ Hidróxido de sodio al 10%
- ❖ Cloroformo
- ❖ Ácido Sulfúrico
- ❖ Anhídrido acético
- ❖ Cloruro férrico
- ❖ Ácido gálico
- ❖ Trolox
- ❖ Carbón activado

3.1.6. Otros

- ❖ Viáticos de Viaje
- ❖ Movilidad

3.1.7. Software para el trabajo

- ❖ Microsoft Office 2021
- ❖ Microsoft Excel 2021

3.2. Diseño metodológico

3.2.1. Tipo de estudio

El tipo de estudio es descriptivo, que establece la relación que existe entre dos variables: Independiente (la concentración de los extractos alcohólicos al 70% de las hojas y tallos de las especies vegetales *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”), y dos variables dependientes (cuantificación de polifenoles totales y determinación de la actividad antioxidante).

3.2.2. Diseño de la investigación

En este estudio se propone un diseño cuasiexperimental por la cuantificación de polifenoles y la determinación de antioxidante. Se manipuló la variable independiente (concentración de los extractos) para observar los resultados en las variables dependientes. (63)

3.2.2.1. Para el ensayo de cuantificación de polifenoles totales

Tabla 1. Diseño Cuasiexperimental para la cuantificación de polifenoles totales por método **Folin-Ciocalteu**.

GRUPO	MUESTRAS DE EXTRACTO	MEDICIÓN DE LA ABSORBANCIA
G1-a	X1-a	O 1-a
G2-a	X2-a	O 2-a
G3-a	X3-a	O 3-a
G4-u	X4-u	O 4-u
G5-u	X5-u	O 5-u
G6-u	X6-u	O 6-u
G-c	X-c	O-c
G-b	-----	O-b

Fuente: Elaboración Propia (2023)

Donde:

- G1-a,.....G-b: Tubos de ensayo con reactivo Folin-Ciocalteu.
- X-c: Patrón Ácido Gálico
- X1-a, X2-a, X3-a: Muestras de extracto de *Piper aduncum* L.
- X4-u, X5-u, X6-u: Muestras de extracto de *Pothomorphe umbellata* L.
- ---: Ausencia de tratamiento
- O 1-a ... O b: Medición de la absorbancia

3.2.2.2. Para el ensayo de la determinación de la actividad antioxidante.

Tabla 2. Diseño Cuasiexperimental para la actividad antioxidante por el método DPPH.

GRUPO	MUESTRAS DE EXTRACTO	MEDICIÓN DE LA ABSORBANCIA
G1-a	X1-a	O 1-a
G2-a	X2-a	O 2-a
G3-a	X3-a	O 3-a
G4-u	X4-u	O 4-u
G5-u	X5-u	O 5-u
G6-u	X6-u	O 6-u
G-c	X-c	O-c
G-b	-----	O-b

Fuente: Elaboración Propia (2023)

Donde:

- G1-a,.....G-b: Tubos de ensayo con reactivo DPPH.
- X-c: Patrón trolox
- X1-a, X2-a, X3-a: Muestras del extracto de *Piper aduncum* L.
- X4-u, X5-u, X6-u: Muestras del extracto de *Pothomorphe umbellata* L.
- ---: Ausencia de tratamiento
- O 1-a ... O-b: Medición de la absorbancia

3.3. Variables implicadas

3.3.1 variable independiente

3.3.1.1 Extractos Etanólicos al 70% de las Especies Vegetales *Piper aduncum* L. (“Matico”) y *Pothomorphe umbellata* L. (“Sajra máscara”)

a) **Definición conceptual:** Proporción cantidad de muestra botánica con metabolitos secundarios (soluto) y la cantidad de etanol de 70° (disolvente) (64).

b) **Definición operacional:**

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Tipo de medición :** Directa
- **Unidad de medida:** mL
- **Indicador:** Concentración de alcohol
- **Escala de medición:** De razón
- **Instrumento de medición:** Probeta, Pipetas
- **Método:** Maceración
- **Procedimiento de medición:** Se procedió a pesar la cantidad necesaria en mg y/o gr de las muestras vegetales pulverizadas y se disolvió en ml de disolvente (alcohol al 70%) el cual se utilizó para determinar la actividad antioxidante y la cuantificación de polifenoles totales.

3.3.2 Variable dependiente

3.3.2.1. Cuantificación de Polifenoles Totales de las Especies Vegetales *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

a) **Definición conceptual:** Consiste en un proceso mediante una técnica espectrofotométrica y mediciones de las absorbancias el cual constata la cantidad de metabolitos secundarios (polifenoles) en un extracto hidroalcohólico (65).

b) **Definición operacional:**

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Tipo de medición:** Indirecta
- **Indicador:** Absorbancias

- **Unidad de medida:** nm
- **Escala de medición:** De razón
- **Instrumento de medición:** Espectrofotómetro
- **Método:** Folin-Ciocalteu
- **Procedimiento de medición:** Se prepararon las soluciones a partir de los extractos secos de ambas muestras, luego de homogenizar y esperar 30 minutos la reacción del extracto con el reactivo Folin-Ciocalteu se midió la absorbancia a 510 nm
- **Expresión final de la variable:** [] de polifenoles en unidades de medida g/mL eq-AG

3.3.2.2. Actividad antioxidante del extracto etanólico de las especies vegetales *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

a) **Definición conceptual:** Consiste en la capacidad que tiene una sustancia de secuestrar el radical 2,2-difenil-1- picril-hidrazilo (DPPH), también le otorga una coloración morada característica que después cambiara amarillo lo cual indica la eficacia captadora del extracto (65).

b) **Definición operacional:**

- **Naturaleza:** Cuantitativo
- **Tipo de medición:** Indirecta
- **Indicador:** % de captación del radical libre DPPH por el extracto hidroalcohólico.
- **Escala de medición :** De razón
- **Instrumento de medición:** Espectrofotómetro UV-Visible.
- **Método:** DPPH (2,2-difenil-1- picril-hidrazilo)
- **Procedimiento de medición:** Se elaboró una curva patrón trolox para determinar la capacidad antioxidante del estándar; para el tratamiento de las muestras se observó una coloración morada cuando se colocaron los ml de los extractos hidroalcohólicos de las especies vegetales y el reactivo DPPH en un tubo de ensayo cubierto y protegido de la luz, las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente y en oscuridad. Finalmente se medirá la absorbancia a una longitud de onda de 510 nm, el viraje de color es un indicativo de la captación del radical DPPH.

- **Expresión final de la variable:** % de captación de radicales libres e IC50.

3.4. Variables no implicadas

De la especie vegetal *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara” en estudio:

Se tomará en cuenta:

- ✓ Estadio de Crecimiento: Etapa de desarrollo que se realizará la recolección de datos.
- ✓ Lugar de Recolección: Ubicación geográfica en el que se recolectará la planta.
- ✓ Temporada de recolección: Fecha en el cual se realizará la recolección

Tabla 3. Operacionalización de variables

		VARIABLES IMPLICADAS	
		INDEPENDIENTE	DEPENDIENTE
Definición conceptual	Extracto etanólico al 70% de las especies vegetales <i>Piper aduncum</i> L. "Matico" y <i>Pothomorphe umbellata</i> L. "Sajra máscara"		Cuantificación de polifenoles totales
	Proporción, cantidad de muestra botánica con metabolitos secundarios (soluto) y la cantidad de etanol de 70° (disolvente) (64).	Consiste en un proceso mediante una técnica espectrofotométrica y mediciones de las absorbancias, el cual constata la cantidad de metabolitos secundarios (polifenoles) en un extracto hidroalcohólico (66).	Actividad antioxidante Consiste en la capacidad que tiene una sustancia de secuestrar el radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), también se le otorga una coloración morada característica, que después cambiara a amarillo lo que indicaría la eficacia captadora del extracto (66).
Naturaleza	Cuantitativa	Cuantitativa	Cuantitativa
Tipo de medición	Directa	Indirecta	Indirecta
Escala de medición	Razón	Razón	Razón
Instrumento	Probeta, Balanza analítica	Espectrofotómetro	Espectrofotómetro
Procedimiento de medición	Se procedió a pesar la cantidad necesaria en mg y/o gr y se maceró en mL de disolvente, que se utilizó para la actividad antioxidante y la cuantificación de polifenoles totales.	Se prepararon las soluciones a partir de los extractos secos de ambas muestras, luego de homogenizar y esperar 30 minutos la reacción del extracto con el reactivo Folin-Ciocalteu se midió la absorbancia a 510 nm	Se produjo una coloración morada cuando se trató el extracto hidroalcohólico con el reactivo DPPH, y se incubó a temperatura ambiente y en oscuridad. Se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm.
Expresión final	mL de extracto hidroalcohólico	[] de polifenoles totales en unidades de medida g/mL eq-AG	% de captación de radicales libres e IC50.
		VARIABLES NO IMPLICADAS	
De la planta	Estadio de crecimiento, lugar de recolección, temporada de recolección.	Fuente: Elaboración propia	

3.5. Procedimiento de la investigación

3.5.1. Preparación de los extractos etanólicos al 70 % de las especies vegetales *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L.

Se realizó el secado en estufa a una temperatura aproximada de 38 °C durante 24 horas, con el fin de obtener el material vegetal pulverizado de ambas especies. Posteriormente, se pesaron 350 g de cada muestra pulverizada y se colocaron en frascos color ámbar. A cada frasco se le añadió etanol al 70% en cantidad suficiente para cubrir completamente la muestra, y se dejó macerar durante 8 días. Transcurrido este período, se procedió a filtrar los extractos con carbón activado para liberar el extracto de la clorofila y se almacenaron en frascos color ámbar.

Ambos extractos, provenientes de las dos especies vegetales, se llevaron a sequedad a una temperatura de entre 37 y 40 °C. Los extractos secos obtenidos se almacenaron en recipientes herméticos a 4 °C, hasta la realización de las pruebas correspondientes.

3.5.2. Porcentaje de humedad de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L.

Se pesó 5g de la muestra vegetal fresca y se colocó en una placa Petri por triplicado. Luego, las placas Petri se pusieron en una estufa que estará graduada a 50 °C durante 24h. Finalmente, habiéndose obtenidos pesos constantes se procedió a realizar los cálculos, para el cual se aplicó la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{M_1 - M_2}{M_1} * 100\%$$

Donde:

%H: Porcentaje de Humedad

M1: Peso de la muestra fresca

M2: Peso de la muestra seca.

3.5.3. Porcentaje de Rendimiento de los extractos hidroalcohólicos *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L.

Los extractos hidroalcohólicos fueron filtrados utilizando embudos y recolectados en frascos color ámbar. El residuo sólido, junto con el papel filtro, se depositó en una placa Petri y se secó en estufa a una temperatura de entre 35 y 40 °C durante 24 horas. Para calcular el porcentaje de rendimiento, se empleó la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{W_1 - W_2}{W_1} * 100\%$$

Donde:

%R: Porcentaje de Rendimiento.

W1: Peso inicial de la muestra seca molida.

W2: Peso final del extracto.

3.5.4. Prueba de solubilidad del pulverizado de hojas y tallos de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L.

Se dispuso 1 g de extracto seco en pequeñas placas Petri, a las cuales se les añadió 1 ml de diferentes solventes: cloroformo, éter, etanol al 70%, etanol al 40%, agua destilada, acetona y etanol absoluto. Luego, se agitó la mezcla y se observó la solubilidad del extracto en cada solvente.

3.5.5. Análisis fitoquímico cualitativo de las hojas y tallos de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata*

- **Azúcares reductores:** En dos tubos de ensayo se colocó 1mL de los extractos por cada muestra y se colocó 0.5mL de reactivo de Fehling A y Fehling B, luego se procedió a llevar a baño isotérmico o ebullición y con la presencia de un color naranja / rojo ladrillo nos indicó una prueba positiva (67).
- **Flavonoides:** En dos tubos de ensayo se colocó 1 mL de los extractos, seguido de un pedazo de limadura de magnesio y 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado (Reactivo Shinoda). La aparición de una coloración naranja y/o amarilla indicó una prueba positiva (46).
- **Fenoles:** En dos tubos de ensayo se colocaron 1 mL de los extractos, y luego se añadieron 3 gotas de cloruro férrico (FeCl₃). La aparición de una coloración púrpura o violeta indicó un resultado positivo (46).

- **Quinolonas:** En dos tubos de ensayo se colocaron 1 mL de los extractos acuosos, con hidróxido de potasio al 10% luego calentar suavemente la mezcla para favorecerla reacción obteniendo un color amarillo que indicó un resultado positivo (67).
- **Alcaloides:** En dos tubos de ensayo se colocaron 1 mL de los extractos. Estos se llevaron a baño maría hasta evaporar por completo el solvente. El extracto seco obtenido se solubilizó con ácido clorhídrico, se calentó ligeramente y se añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff. La aparición de un precipitado rojo ladrillo indicó un resultado positivo (67).
- **Saponinas:** Se realizó con la prueba de espuma, en la que se colocó una pequeña cantidad de muestra en un tubo de ensayo con agua y se agitó vigorosamente durante 30 segundos. La formación de espuma que perdura durante más de 3 minutos indicó un resultado positivo (46).
- **Taninos:** En dos tubos de ensayo se colocaron 1 mL de los extractos, y luego se añadieron 3 gotas de cloruro férrico (FeCl_3). La aparición de una coloración azul oscura o verde indicó un resultado positivo (46).
- **Esteroides:** Se tomaron 2 mL de los extractos y se llevaron a sequedad. Al extracto seco obtenido se le añadieron 1-3 mL de cloroformo hasta solubilizarlo. Luego, se añadió 1 mL de anhídrido acético y, finalmente, 3 gotas de ácido sulfúrico. La aparición de una coloración verde intensa indicó un resultado positivo (46).
- **Lactonas sesquiterpénicas:** Se tomaron 3 mL de los extractos y se llevaron a sequedad. A los extractos secos obtenidos se le añadieron 2 mL de etanol y 2-3 gotas del reactivo de Baljet, el cambio de coloración de naranja a rojo nos indicó un resultado positivo (46).

3.5.6. Cuantificación de polifenoles método de Folin - Ciocalteu de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L.

Para la determinación de polifenoles totales se llevó a cabo mediante el método de Folin-Ciocalteu. Este método se fundamenta en la capacidad reductora de los polifenoles. Se utilizó una mezcla de ácido fosfowolfrámico ($\text{H}_3[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]$) y fosfomolibdico ($\text{H}_3[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]$), que inicialmente produce una coloración amarilla. En un medio básico proporcionado por carbonato de sodio, esta mezcla cambió de color de amarillo a azul en diversas tonalidades, debido a la reacción de reducción causada por los fenoles. Estos compuestos fenólicos reducen el reactivo de Folin-

Ciocalteu, formando complejos como los óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia se mide a una longitud de onda de 760 nm y los resultados se expresan en miligramos de ácido gálico por gramo de peso seco. Para realizar la extracción de polifenoles de las muestras, se pesó 1.0293 g de extracto seco de Matico y 1.0155 g de extracto seco de Sajra máscara, se disolvió en agua caliente, finalmente se aforó a 100 mL el cual fue almacenado de manera hermética a 4 °C hasta realizar la prueba.

3.5.6.1. Cuantificación de polifenoles totales de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L. y elaboración de la curva patrón de ácido gálico.

Se preparó una curva patrón de ácido gálico con una concentración de 0.5 g/L como referencia. Las concentraciones y cantidades correspondientes se detallaron en la Tabla N°4. La mezcla total se homogenizó en un vortex durante 30 segundos y luego se colocó en un baño isotérmico a 45 °C durante 30 minutos. La absorbancia se leyó a 760 nm contra el blanco. Finalmente, la concentración de polifenoles se determinó utilizando la curva patrón de ácido gálico.

Tabla 4. Procedimiento para la preparación de la curva patrón de ácido gálico y muestras de estudio.

Nº Tubos	Ácido Gálico (ug)	Ácido Gálico (mL)	Agua (mL)	Na ₂ CO ₃ 7.5% (mL)	Folin - Ciocalteu 2N (mL)	Extracto (mL)
Blanco	0	0	1	2	2.5	0
P-1	80	0.160	0.840	2	2.5	0
P-2	70	0.140	0.860	2	2.5	0
P-3	60	0.120	0.880	2	2.5	0
P-4	50	0.100	0.900	2	2.5	0
P-5	40	0.080	0.920	2	2.5	0
P-6	30	0.060	0.940	2	2.5	0
P-7	15	0.030	0.970	2	2.5	0
P-8	5	0.010	0.990	2	2.5	0
M-1	0	0	0.5	2	2.5	0.5
M-2	0	0	0.5	2	2.5	0.5
M-3	0	0	0.5	2	2.5	0.5
S-1	0	0	0.5	2	2.5	0.5
S-2	0	0	0.5	2	2.5	0.5
S-3	0	0	0.5	2	2.5	0.5

Fuente: Elaboración propia (M: Matico y S: Sajra máscara)

3.5.7. Actividad antioxidante in vitro método DPPH ((2,2-difenil-1 picrilhidracilo) de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L.

La capacidad antioxidante se evaluó utilizando el método desarrollado por Brand-Williams et al. Este método implicó la reacción de una concentración del extracto con el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Inicialmente, el radical DPPH tiene un color azul-violeta en medio metanólico, el cual va cambiando hacia el color amarillo debido a la donación de electrones por parte del extracto antioxidante. La absorción de esta reacción se midió a una longitud de onda de 517 nm, y la diferencia en las absorbancias permitió cuantificar la capacidad del extracto para captar radicales libres.

3.5.7.1. Preparación de la solución de DPPH.

Se preparó una solución de DPPH con una concentración de 0.096 mM, para lo cual se disolvieron 3.9 mg de DPPH en 10 mL de metanol. Luego, se midieron 5 mL de esta solución de DPPH y se aforaron a 50 mL. Finalmente, la solución se dejó reposar durante 30 minutos en la oscuridad para la activación del reactivo (46).

3.5.7.2. Preparación de la curva de calibración

Se preparó una solución estándar de patrón Trolox 0.5 mM (125 ug/mL), y en tubos de ensayo completamente limpios se colocaron los reactivos en el orden correspondiente a la tabla N°5, cada tubo de ensayo fue agitado durante 15 segundos en un vortex para garantizar un mezclado homogéneo, transcurrido el tiempo establecido que son 30 minutos en completa oscuridad se leen las absorbancias a 517nm y con los datos obtenidos se procedió a elaborar la curva de calibración. (46)

Tabla 5. Preparación de la curva de calibración de Trolox.

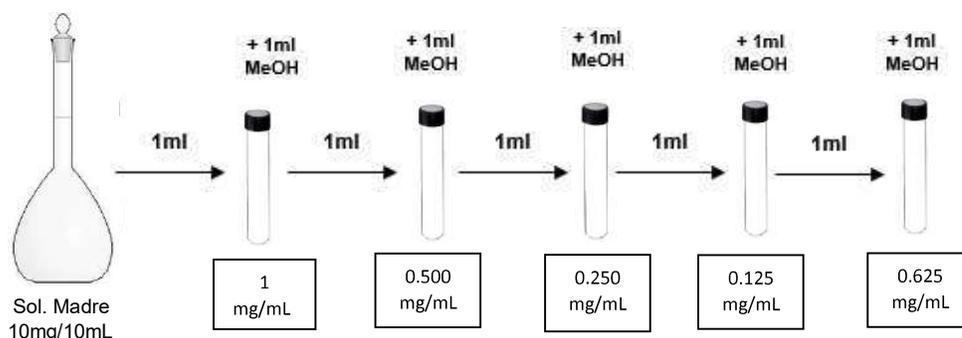
N° Tubos	Trolox 500 uM	Trolox (uL)	Metanol (uL)	DPPH 0.096 Mm (uL)
Blanco	-	-	3000	-
Control	-	-	2000	1000
1	1.66	10	1990	1000
2	2.49	15	1985	1000
3	3.33	20	1980	1000
4	4.15	25	1975	1000
5	4.98	30	1970	1000
6	5.81	35	1965	1000
7	6.66	40	1960	1000
8	8.3	50	1950	1000
9	10	60	1940	1000
10	11.62	70	1930	1000

Fuente: Elaboración propia.

3.5.7.3. Preparación de las muestras.

Se preparó un extracto metanólico para ello se pesó 10 mg de extracto seco y se aforó en 10 mL de metanol al 99.9% de pureza, posteriormente se realizó diluciones sucesivas como se muestra en el siguiente diagrama de los extractos secos que proviene de los extractos secos de las muestras.

Figura 10: Procedimiento DPPH.



Fuente: Elaboración propia.

Posteriormente, a partir de cada dilución se procede a colocar los reactivos en el siguiente orden de acuerdo al siguiente cuadro.

Tabla 6. Preparación de las muestras de acuerdo a cada dilución.

Conc. mg/mL	(Matico) (uL)	(Sajra máscara) (uL)	DPPH 0.096 Mm (uL)	Tiempo en oscuridad
1	50	50	1900	30 min
0.500	50	50	1900	30 min
0.250	50	50	1900	30 min
0.125	50	50	1900	30 min
0.0625	50	50	1900	30 min

Fuente: Elaboración propia.

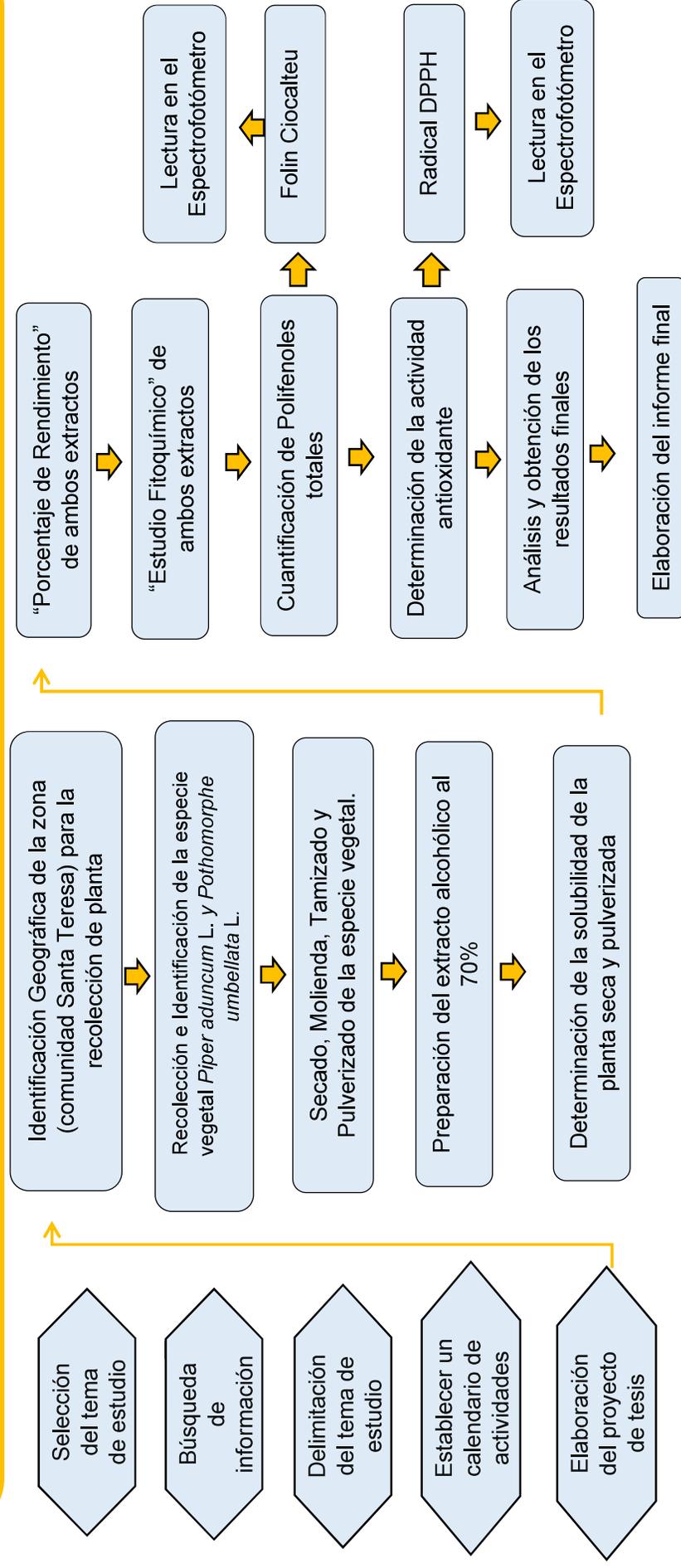
Finalmente, transcurrido los 30 minutos en oscuridad se procedió con las lecturas en el espectrofotómetro, y se calculó el porcentaje de inhibición del radical DPPH con la siguiente fórmula.

$$\% \text{ de Inhibición DPPH: } \left(\frac{\text{Absorbancia Control} - \text{Absorbancia Muestra}}{\text{Absorbancia Control}} \right) * 100$$

3.6. Flujograma de desarrollo del proyecto

Tabla 7. Flujograma de Investigación

Estudio fitoquímico, cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante in vitro del extracto etanólico al 70% de hojas y tallos de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”.



CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Ensayos preliminares

4.1.1. Porcentaje de humedad *Piper aduncum* L. "Matico" y *Pothomorphe umbellata* L. "Sajra máscara"

Tabla 4. 1 Porcentaje de humedad de *Piper aduncum* L. "Matico" y *Pothomorphe umbellata* L. "Sajra máscara"

Muestra	Muestra Fresca de Hojas y Tallos (g)	Materia Seca de Hojas y Tallos (g)	Porcentaje de Humedad (%)	Porcentaje de Humedad (%)
M-1	5.073	1.392	72.560	72.550
M-2	5.159	1.437	72.145	
M-3	5.068	1.371	72.947	
S-1	5.038	1.518	69.868	69.846
S-2	5.018	1.510	69.908	
S-3	5.050	1.527	69.762	

Fuente: Elaboración propio M: Matico; S: Sajra máscara.

La tabla 4.1 muestra que el porcentaje de humedad de *Piper aduncum* L. ("Matico"), dio un promedio de 72.55%, mientras que *Pothomorphe umbellata* L. ("Sajra máscara") de 69.84%. Estos valores muestran una alta concentración de humedad, por lo cual se implementó un cuidado adicional en el manejo de las muestras vegetales evitando de esta manera la exposición prolongada de la muestra al medio ambiente y una humedad mayor.

Análisis y discusión de resultados

El autor Espinoza Luna (2018) (68) reportó un porcentaje de humedad para *Piper aduncum* L. (Matico) un valor de 77,23% \pm 0,70%, un valor que se atribuye a su entorno húmedo y su hábitat, caracterizado por un clima húmedo. Este resultado presenta una ligera diferencia con el promedio de 72.55% obtenido en el presente estudio para la misma especie. Por otro lado, Sharapin (2000) (69) indicó que el porcentaje de humedad de las hojas frescas oscila entre el 20% y el 75%, valores considerados normales. Sin embargo, Reza (2011) (70) indica en su investigación que las hojas de Matico presentaban un porcentaje de humedad del 84,29%. También la autora

Pullaguaria Ochoa (2014) (21) menciona una humedad del 80% en las hojas de *Piper umbellata* L.

A partir de lo anterior, los resultados obtenidos en este estudio muestran una ligera diferencia respecto a los reportados por otros autores. Se encontró que el Matico presentó un promedio de 72.55% y la Sajra máscara un promedio de 69.85%, ambos valores elevados. Esto sugiere que la alta humedad del entorno podría influir en estos resultados, dado que ambas son especies vegetales de clima húmedo.

4.1.2. Determinación de la solubilidad del extracto etanólico al 70% de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

Tabla 4. 2 Solubilidad del Extracto etanólico al 70% de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

Características	<i>Piper aduncum</i> L. (Matico)	<i>Pothomorphe umbellata</i> L. (Sajra máscara)
Agua Destilada	+++	+++
Metanol	+++	++
Etanol 40%	++	++
Etanol 70%	++	++
Etanol Absoluto	-	-
Acetona	-	-
Cloroformo	-	-
Éter	-	-

Leyenda: • Muy soluble: +++ • Soluble: ++ • Poco soluble: + • Insoluble: -

Fuente: Elaboración propio

En la tabla 4.2 se observa los resultados de las pruebas de solubilidad, haciéndose uso de diferentes solventes para ambas muestras vegetales, se puede apreciar que los extractos secos son muy solubles (+++) en agua destilada, solubles (+++) en metanol y etanol al 40%, e insolubles (-) en etanol absoluto, acetona, cloroformo y éter; esto se pueden verificar en el anexo N°3.

Análisis y discusión de resultados

Según Varillas Alania *et al.*, (2018), (71) , en su estudio sobre la especie vegetal *Piper aduncum* L. (Matico), se demuestra que el extracto seco de Matico es soluble en alcohol de 96° y en agua destilada, siendo estos los principales solventes. Este dato coincide con lo observado en *Pothomorphe umbellata* L., donde también se evidenció su solubilidad en agua destilada y etanol en diversas concentraciones. Asimismo, se señala que el extracto seco de Matico no es soluble en compuestos

apolares como éter etílico, cloroformo y acetona. Estos resultados son consistentes con los obtenidos para *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L., ya que tampoco son solubles en dichos solventes. La autora Pullaguaria Ochoa (2014), menciona en su investigación que la especie *Pothomorphe umbellata* L. es soluble en metanol. Este dato coincide con lo reportado, ya que las muestras estudiadas también son solubles en metanol.

4.1.3. Porcentaje de rendimiento del extracto etanólico al 70 % de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

Tabla 4. 3 Porcentaje de Rendimiento de los Extractos de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

Muestra	Cantidad de Materia Prima (g)	Cantidad de Materia Seca (g)	Porcentaje de Rendimiento (%)
<i>Piper aduncum</i> L. (Matico)	350	290.05	17.12
<i>Pothomorphe umbellata</i> L. (Sajra máscara)	350	295.09	15.68

Fuente: Elaboración propio

En la tabla 4.3 se puede evidenciar que a partir de 350 gr de materia prima de Matico y Sajra máscara, se obtuvo un resto sólido de 290.05 g en Matico y 295.09 g en el caso de Sajra máscara, lo que resulta en un porcentaje de rendimiento del 17.12% para Matico y del 15.68% para Sajra máscara. A partir de estos resultados obtenidos, podemos inferir que el porcentaje de rendimiento de *Piper aduncum* L. es mayor en un 1.44% a *Pothomorphe umbellata* L.

Análisis y discusión de resultados

Según el autor Carmona *et al*, 2014 (72) , quien estudió 9 plantas del género Piper, los porcentajes de rendimientos obtenidos a partir de 1 kg de materia seca fueron más elevados: el 30 % corresponde a *Piper auritum* L. y *Piper amalago* L., mientras que el 19.4 % corresponde a *Piper aduncum* L. El resto de las especies vegetales obtuvo rendimientos de entre 21 % y 28 %.

En el presente trabajo de investigación se obtuvo un porcentaje promedio del 17.12 % para Matico, el cual coincide con el mencionado para *Piper aduncum* L. en el estudio del autor Carmona *et al*. 2014, puesto que para obtener dicho porcentaje se utilizó aproximadamente 350 g de materia seca. Por lo tanto, si se hubiera usado una

cantidad más elevada de materia seca, se podría haber obtenido un porcentaje de rendimiento más alto. Asimismo, el autor Pullaguaria Ochoa (2014) (21) menciona en su trabajo de investigación sobre la especie *Pothomorphe umbellata* L. un porcentaje de 6.47 % a partir de un extracto con hexano. Por otro lado, la autora Paredes *et al.* (2014) (73) señala que el porcentaje de rendimientos de la especie *Piper obliquum* L. es 14.92 %, *Piper brasiliensis* L. es 14.50 %, y *Piper jalapensis* L. posee 13.95 %. Estos datos difieren ligeramente de los obtenidos en el presente estudio, ya que se registró un porcentaje ligeramente más elevado para Matico y Sajra máscara.

4.1.4. Análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico al 70 % de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

Tabla 4. 4 Estudio fitoquímico cualitativo del extracto etanólico al 70% de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

Metabolito	Reactivo	<i>Piper aduncum</i> L. (Matico)	<i>Pothomorphe umbellata</i> L. (Sajra máscara)
Flavonoides	Rvo. Shinoda	+++	++
Fenoles	Fe Cl ₃	+	++
Quinonas	K OH	+	+
Taninos	Fe Cl ₃	+	+
Azúcares Reductores	Rvo. Fehling A y B	+	++
Alcaloides	Rvo. Dragendroff	+	-
Lactonas Sesquiterpénicas	Rvo. Balget	++	+
Esteroides	Rvo. Lieberman Burchard	-	+
Saponinas	Espuma	-	++

Leyenda: • Abundante Cantidad: +++ • Regular Cantidad: ++ • Poca Cantidad: + • Ausente: -

Fuente: Elaboración propio

En la tabla 4. 4 se puede verificar que en la muestra de *Piper aduncum* L. se confirmó la presencia de flavonoides en abundante cantidad (+++), lactonas sesquiterpénicas en cantidad regular (++) , y compuestos fenólicos, quinonas, taninos, alcaloides y azúcares reductores en poca cantidad (+). Además, se observó la ausencia (-) de esteroides y saponinas. Por otro lado, la muestra vegetal *Pothomorphe umbellata* L. presentó una cantidad regular (++) de flavonoides, compuestos fenólicos, azúcares

reductores y saponinas, y poca cantidad (+) de quinonas, taninos, lactonas sesquiterpénicas y esteroides. Finalmente, se evidenció la ausencia (-) de alcaloides.

Análisis y discusión de resultados

Según el autor Bermúdez Riofrío (2017) quién estudió la especie vegetal *Piper peltatum* L., que pertenece a la misma familia que *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L., demostró la presencia de flavonoides, fenoles, taninos y azúcares reductores. Además, señaló la ausencia de saponinas, lo cual concuerda con el análisis realizado en la muestra de Matico, pero difiere en el caso de Sajra máscara, que sí posee saponinas. Por otro lado, el trabajo de investigación del autor Soto Vásquez (2015), reveló que en la especie *Piper peltatum* L. se encontraba en poca cantidad la presencia de alcaloides y esteroides, lo cual contrasta con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde se identificó la presencia de ambos. En la muestra de Matico, se encontraron alcaloides, pero no esteroides, lo que difiere de lo reportado por el autor. En cuanto a Sajra máscara, se identificaron alcaloides, pero no esteroides, lo que nuevamente contrasta con los resultados del autor mencionado. Finalmente, el estudio reportado por Mendoza *et al.* (74) también demostró la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos en la especie *Piper aduncum* L., lo cual concuerda con los hallazgos del presente estudio.

4.2. Determinación de polifenoles totales del extracto etanólico al 70% de *Piper aduncum* L. (“Matico”) y *Pothomorphe umbellata* L. (“Sajra máscara”)

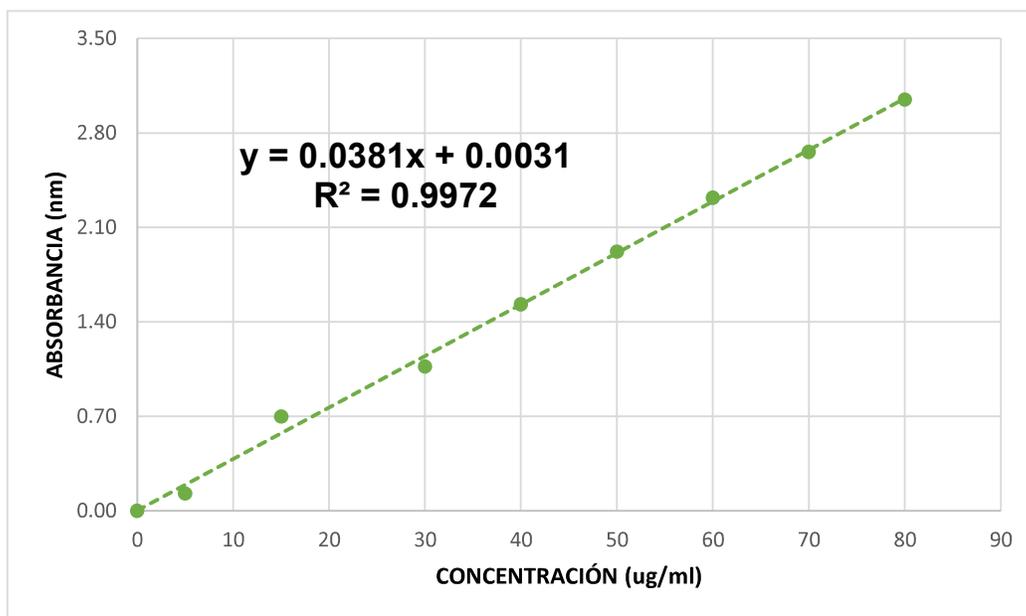
4.2.1. Curva de calibración de ácido gálico y muestras

Tabla 4. 5 Elaboración de la curva patrón de Ácido Gálico

Patrón	Ácido gálico (ug)	Ácido gálico (uL)	Absorbancia promedio
P-1	80	160	3.05
P-2	70	140	2.66
P-3	60	120	2.32
P-4	50	100	1.92
P-5	40	80	1.53
P-6	30	60	1.07
P-7	15	30	0.70
P-8	5	10	0.13
<i>Piper aduncum</i> L. (Matico)	-	-	0.655
<i>Pothomorphe umbellata</i> L. (Sajra máscara)	-	-	0.467

Fuente: Elaboración propio

Figura 11: Curva Patrón de Ácido Gálico



Fuente: Elaboración propia

En la tabla 4.5 se presentan los datos detallados de la curva de calibración de ácido gálico, donde se han registrado 8 puntos de referencia. Además, se incluyen las

absorbancias promedio de las muestras de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L. Estos datos proporcionan una base para la determinación cuantitativa de polifenoles totales en las muestras analizadas.

En la figura N°11 se muestra de manera gráfica la relación lineal entre la concentración de ácido gálico y las absorbancias registradas. Según esta grafica se presenta una ecuación de recta con pendiente positiva: $y=0.0381x+0.0031$. Este modelo de regresión lineal ajustado, presenta un coeficiente de determinación $R^2=0.9972$. Este valor indica que aproximadamente el 99.72% de la variabilidad en las absorbancias medidas, puede ser explicada por la concentración de ácido gálico, mostrando así una alta fiabilidad y precisión del ajuste lineal.

4.2.2. Contenido de polifenoles totales de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

Tabla 4. 6 Contenido de Polifenoles Totales en *Piper aduncum* L. (“Matico”) y *Pothomorphe umbellata* L. (“Sajra máscara”).

Muestras	Absorbancia (nm)	Polifenoles totales	
		ug Ácido gálico/g MS	g Ácido gálico/100g MS
Matico	0.655	3422 ug/mL eq-AG	0.3503 g/mL eq-AG
Sajra máscara	0.467	2434 ug/mL eq-AG	0.2396 g/mL eq-AG

Fuente: Elaboración propio

Los resultados obtenidos en la tabla 4.6 sobre la cuantificación de los polifenoles de ambas plantas del presente estudio, muestran una diferencia considerable entre los resultados. Pues para la muestra de Matico, se preparó una solución de extracto seco (1.0293 g disueltos en 100 mL de agua destilada), a partir de la cual se obtuvo un resultado de 3422 $\mu\text{g/mL}$ eq-AG presente en 1.0293 g de materia seca, y 0.3503 g/mL eq-AG presentes en 100 g de materia seca. En cuanto a Sajra máscara se preparó una solución de extracto seco (1.0155 g disueltos en 100 mL de agua destilada), que resultó en 2434 $\mu\text{g/mL}$ eq-AG presente en 1.0155 g de materia seca y 0.2396 g/mL eq-AG presentes en 100 g de materia seca.

De esta manera, se puede observar claramente que la cantidad de polifenoles presentes en la muestra de Matico difiere en 988 $\mu\text{g/mL}$ eq-AG frente a la cantidad de polifenoles obtenidos en la muestra de Sajra máscara. Además, los resultados obtenidos en base a 100 g de materia seca difieren en 0.1107 g/mL eq-AG.

Análisis y discusión de resultados

En el presente trabajo de investigación, se realizaron pruebas fitoquímicas con el objetivo de identificar la presencia de polifenoles. Tras obtener un resultado positivo en estas pruebas, se procedió a realizar la prueba de Folin-Ciocalteu, mediante la cual se cuantificaron los polifenoles, dando como resultado 0.3503 g/mL eq-AG presentes en 100 g de materia seca de la muestra de Matico, y 0.2396 g/mL eq-AG presentes en 100 g de materia seca de Sajra máscara.

El autor Alvarado Santillán 2019, menciona que tanto la especie vegetal *Piper peltatum* L. como *Piper aduncum* L. muestran una amplia diversidad de metabolitos, incluyendo alcaloides, triterpenos, flavonoides, fenoles, taninos, entre otros. Además, destaca que estos metabolitos presentan una significativa capacidad antioxidante; estos resultados coinciden con los identificados en el presente estudio de ambas muestras de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L. Asimismo, el autor Soto Vásquez (2015), reportó que existe la presencia de flavonoides en las especies vegetales *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L., ambas especies pertenecientes a la misma familia poseen una cantidad de $1,8 \pm 0,16$ y $2,51 \pm 0,15$ g equivalentes a quercetina /100 g de hoja seca, respectivamente.

La autora Gil Padilla (2019), demostró en su trabajo de investigación la presencia de polifenoles expresados en catequina dando como resultado 31.94 ± 1.18 mg de catequina /1 g de muestra seca de la especie vegetal *Piper aduncum* L. finalmente de todo lo mencionado anteriormente podemos inferir que la especie vegetal *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L. poseen presencia de polifenoles, y las cantidades dependerán de las cantidades de muestra que se vayan a usar para esta prueba.

4.3. Actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH para el extracto etanólico al 70% de *Piper aduncum* L. (Matico) y *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara)

4.3.1. Patrón trolox.

4.3.1.1. Curva de calibración del patrón trolox

Tabla 4. 7 Absorbancia y Porcentaje de la Curva Patrón Trolox

Trolox 0.5 mM (ug)	Promedio Absorbancia (nm)	Porcentaje de captación (%)
0	0.333	0
1.66	0.292	67.8
2.49	0.274	69.8
3.33	0.258	70.91
4.15	0.238	73.16
4.98	0.222	74.97
5.81	0.197	77.79
6.66	0.182	79.48
8.3	0.140	84.21
10.0	0.099	88.83
11.62	0.068	92.33
DPPH	0.887	--

Fuente: Elaboración propio

En la tabla 4.7 se puede apreciar la curva de calibración con el patrón de referencia (trolox), en la cual se tomaron 11 puntos con diferentes concentraciones de manera creciente. En la tabla se muestra la lectura promedio de las absorbancias obtenidas mediante el espectrofotómetro de las concentraciones mencionadas. Estas absorbancias nos permitieron calcular el porcentaje de captación de radical libre Trolox, por el cual se obtuvo 67.8 % de captación a una concentración de 1.66 µg/mL, un 69.8 % a una concentración de 2.49 µg/mL, un 70.91 % a una concentración de 3.33 µg/mL, un 73.16 % a una concentración de 4.15 µg/mL, un 74.97 % a una concentración de 4.98 µg/mL, un 77.97 % a una concentración de 5.81 µg/mL, un 79.48 % a una concentración de 6.66 µg/mL, un 84.21 % a una concentración de 8.3 µg/mL, un 88.83 % a una concentración de 10 µg/mL, y finalmente un 92.33 % a una concentración de 11.62 µg/mL

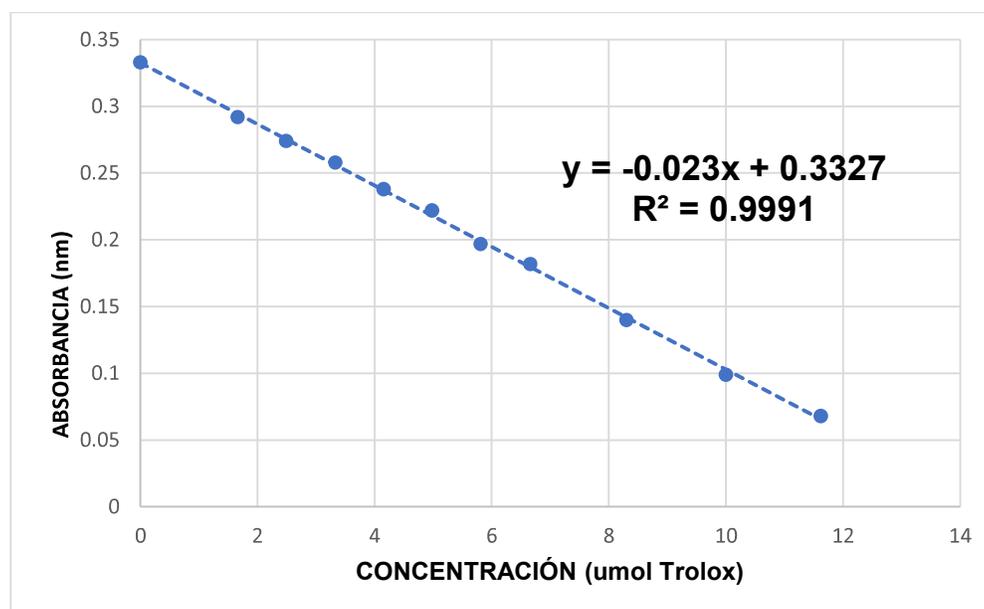
A partir de estos datos, se puede inferir que “a mayor concentración del patrón, mayor captación del radical libre y mayor porcentaje de actividad antioxidante”, por lo que se concluye que, al presentar una mayor concentración del extracto, la capacidad antioxidante será mayor.

Análisis y discusión de resultados

La autora Torres Polanco (2019), (75) realizó la determinación de la actividad antioxidante utilizando como referencia el patrón Trolox en concentraciones similares a las empleadas en el presente estudio. Los valores obtenidos en las lecturas de absorbancia reflejan similitud con los obtenidos en nuestra investigación: 0.280 nm para una concentración de 1.66 µg/mL, 0.236 nm para 3.33 µg/mL, 0.141 nm para 6.67 µg/mL y 0.055 nm para 10 µg/mL. Estas absorbancias son comparables a las registradas en nuestro trabajo.

En conclusión, estos resultados sugieren que el Trolox funciona adecuadamente como patrón, ya que su capacidad antioxidante es similar o incluso mayor a la de las muestras analizadas en el presente estudio.

Figura 12: Curva Patrón Trolox Concentración vs Absorbancia.



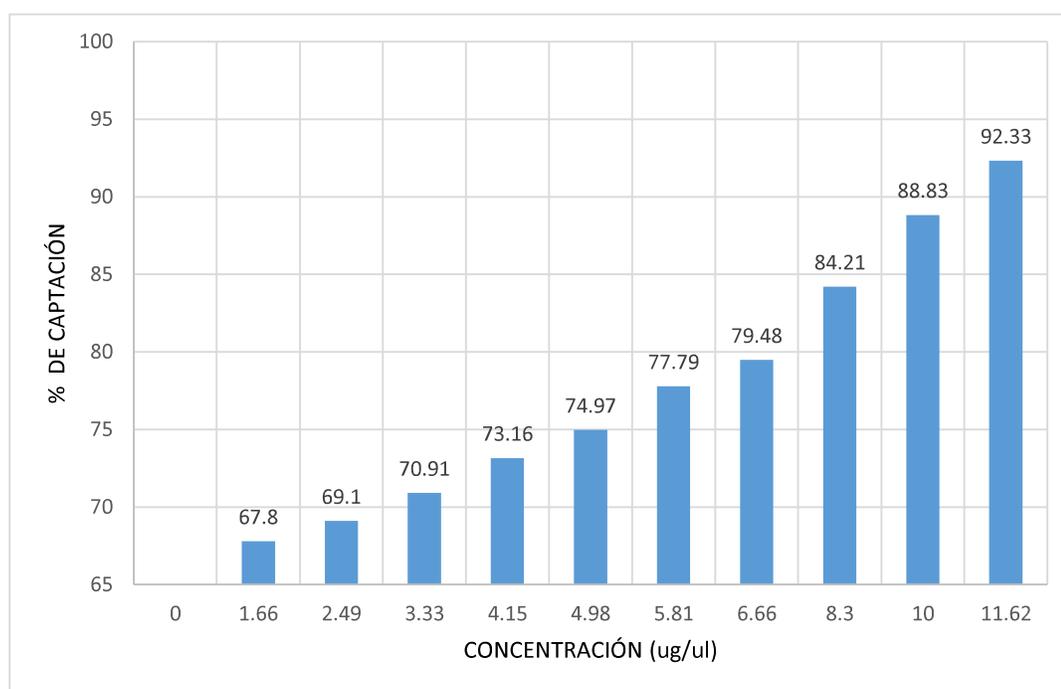
Fuente: Elaboración propio

En la figura N°12 se muestra el gráfico que representa la relación entre la concentración del patrón Trolox, y la absorbancia registrada para cada nivel de concentración. Al analizar los datos obtenidos, se calculó un coeficiente de determinación $R^2 = 0.9991$. Este valor indica que aproximadamente el 99.91% de la

variación en la absorbancia (variable dependiente) puede explicarse por la variación en la concentración del patrón Trolox (variable independiente). En otras palabras, existe una fuerte correlación entre la concentración de trolox y la absorbancia medida en el ensayo.

Basándonos en este resultado, se puede inferir que la actividad antioxidante del trolox es directamente proporcional a su concentración. Cuando la concentración de trolox aumenta, la captación del radical libre también aumenta de manera significativa. Por lo tanto, se concluye que la relación observada en el gráfico demuestra que mayores concentraciones de trolox se correlacionan con una mayor actividad antioxidante.

Figura 13: *Porcentaje de Captación del Radical DPPH Concentración vs % de inhibición.*



Fuente: Elaboración propio

En la figura N°13 se presenta una representación gráfica de la relación entre la concentración del patrón trolox y el porcentaje de captación del radical libre DPPH. Este gráfico ilustra cómo varía la capacidad antioxidante del trolox en función de su concentración. Al analizar los datos, se observa claramente una tendencia positiva, donde un incremento en la concentración de trolox se traduce en un aumento significativo en la capacidad de captación del radical libre DPPH. Este comportamiento indica que, a medida que la concentración del patrón trolox aumenta, también lo hace

su capacidad antioxidante, lo que sugiere una relación directa y proporcional entre ambas variables.

En resumen, del análisis del gráfico en la figura N°13 se puede concluir que una mayor concentración de Trolox se asocia con una mayor capacidad antioxidante.

4.3.2. Capacidad antioxidante de los extractos etanólicos al 70 % de las especies vegetales *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L. y cálculo del IC50%.

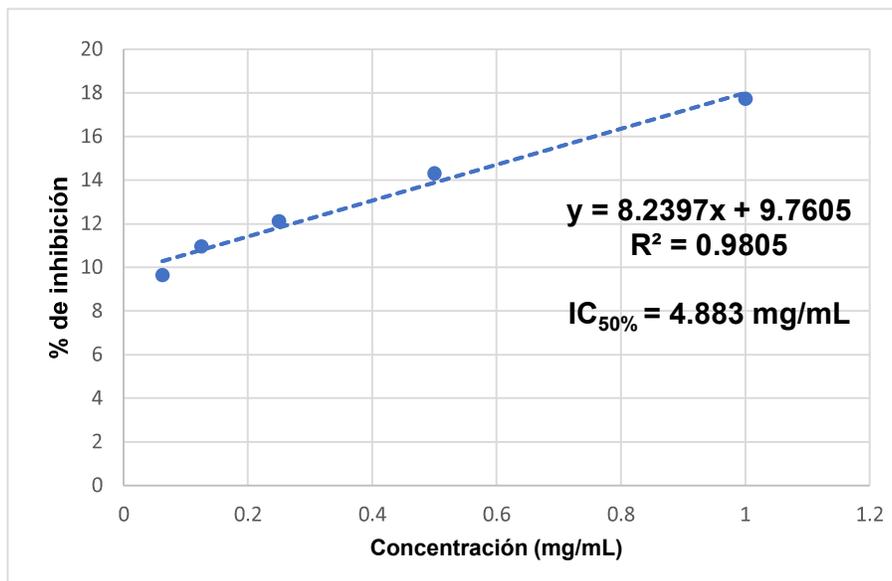
Tabla 4. 8 Absorbancia y Porcentaje de Inhibición del Radical DPPH del extracto etanólico al 70% de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L.

Conc. (mg/mL)	Abs. (nm) (Sajra máscara)	Porcentaje de Inhibición del Radical DPPH. (%) (Sajra máscara)	IC50 mg/mL	Abs. (nm) (Matico)	Porcentaje de Inhibición del Radical DPPH. (%) (Matico)	IC50 mg/mL
1	0.980	17.726	4.883	0.698	41.418	1.334
0.5	1.021	14.318		0.814	31.708	
0.250	1.047	12.111		0.889	25.405	
0.125	1.061	10.969		0.943	20.839	
0.0625	1.077	9.643		0.959	19.479	

Fuente: Elaboración propio

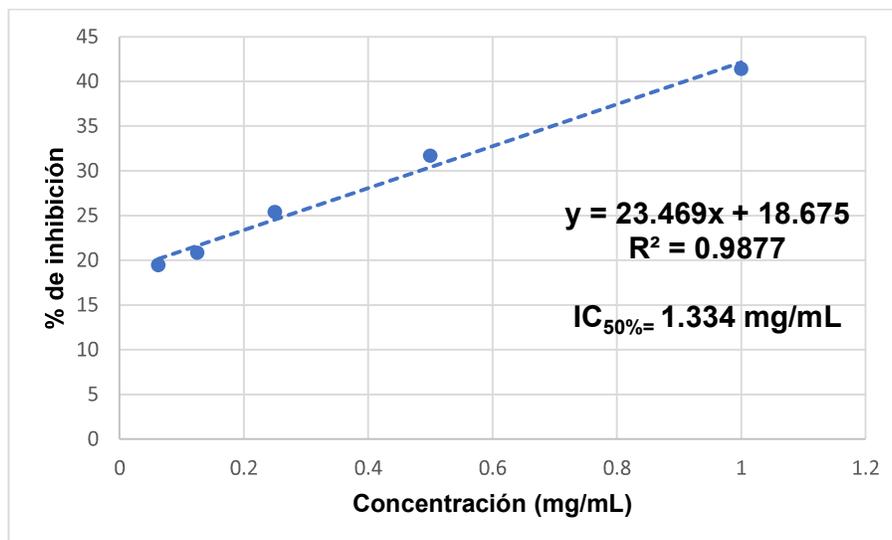
En la tabla 4.8 se muestran los resultados del porcentaje de captación de radicales libres del extracto etanólico al 70% de ambas muestras: Matico y Sajra máscara. Se obtuvieron los siguientes resultados: 17.726 % (Sajra máscara) y 41.418 % (Matico) para una concentración de 1 mg/mL de extracto; 14.318 % (Sajra máscara) y 31.708 % (Matico) para una concentración de 0.5 mg/mL de extracto; 12.111 % (Sajra máscara) y 25.405 % (Matico) para una concentración de 0.250 mg/mL de extracto; 10.969 % (Sajra máscara) y 20.839 % (Matico) para una concentración de 0.125 mg/mL de extracto; y por último, para una concentración de 0.0625 mg/mL se obtuvo un 9.643 % (Sajra máscara) y 19.479 % (Matico) de captación del radical libre DPPH. Finalmente, en los resultados obtenidos, podemos evidenciar que la muestra que tuvo mayor capacidad de captación del radical DPPH fue Matico en comparación con Sajra máscara. Asimismo, podemos inferir que, a mayor concentración, mayor capacidad antioxidante.

Figura 14: Curva de concentración vs % de inhibición del extracto etanólico al 70% de Sajra máscara frente al radical DPPH y cálculo del $IC_{50\%}$.



Fuente: Elaboración propio

Figura 15: Curva de Concentración vs Absorbancia del extracto etanólico al 70% de Matico frente al radical DPPH y cálculo del $IC_{50\%}$.



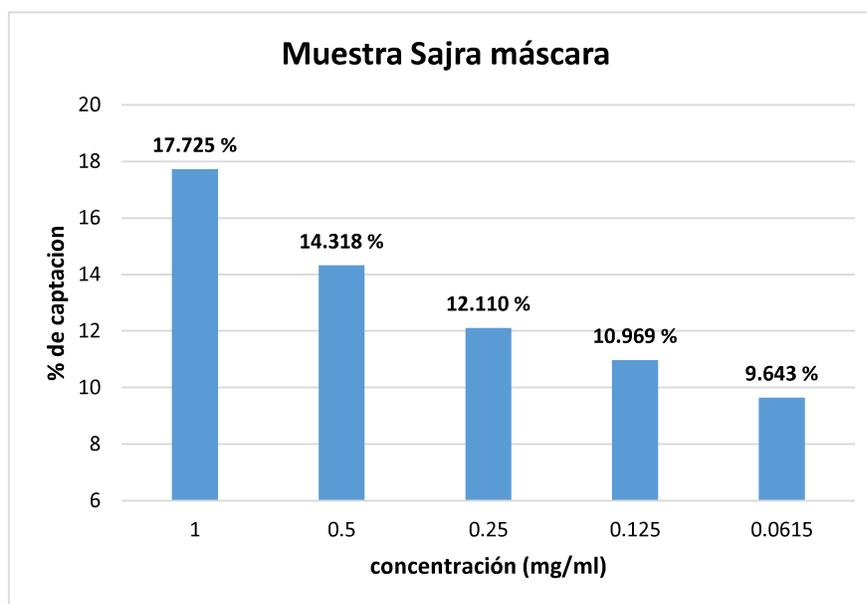
Fuente: Elaboración propio

En las imágenes N°14 y N°15 se muestra la relación entre la concentración del extracto etanólico al 70% de las muestras de Sajra máscara y Matico, respectivamente, y % de inhibición medida para cada concentración. En el caso de Sajra máscara, se obtuvo un coeficiente de determinación $R^2=0.9877$, mientras que para Matico se registró un $R^2=0.9805$. Estos valores indican que aproximadamente el

98.05 % de la variación en la captación del radical libre (variable dependiente) puede ser explicada por la variación en la concentración del extracto (variable independiente) en Sajra máscara, y el 98.77 % en Matico. Esto señala una relación muy significativa y consistente entre la concentración del extracto y su capacidad antioxidante, medida por la captación del radical libre DPPH.

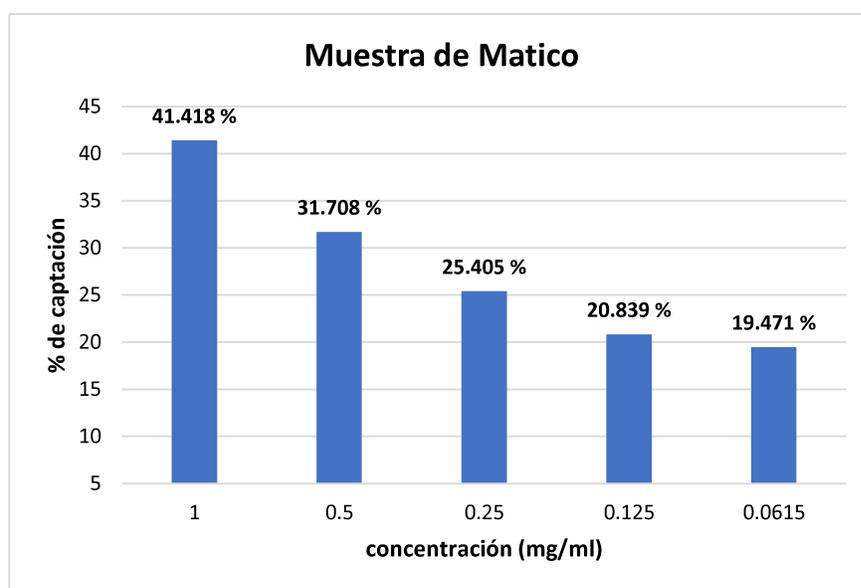
En consecuencia, se puede inferir que tanto Sajra Máscara como Matico muestran una asociación clara entre la concentración del extracto y su actividad antioxidante. A medida que aumenta la concentración del extracto etanólico al 70%, se observa un incremento correspondiente en la capacidad de captación de radicales libres, lo que indica que la actividad antioxidante de estos extractos está directamente influenciada por su concentración. En resumen, los coeficientes de determinación obtenidos respaldan la conclusión de que la actividad antioxidante de los extractos de Sajra máscara y Matico depende significativamente de la concentración del extracto utilizado en el estudio.

Figura 16: Porcentaje de captación del radical DPPH, Concentración vs Porcentaje de captación del radical DPPH del extracto etanólico al 70% de *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara)



Fuente: Elaboración propia

Figura 17: Porcentaje de captación del radical DPPH, Concentración vs Porcentaje de captación del radical DPPH del extracto etanólico al 70% de *Piper aduncum* L. (Matico).



Fuente: Elaboración propia

En la figura N°16 y la figura N°17 se muestra la relación del extracto etanólico al 70% de las muestras de Sajra máscara y Matico frente al porcentaje de captación del radical libre DPPH por las diferentes concentraciones realizadas de los extractos, de los grafico mostrados anteriormente se puede concluir que a mayor concentración del extracto etanólico al 70% mayor capacidad antioxidante.

Análisis y discusión de resultados

De los resultados mostrados anteriormente de los extractos hidroalcohólicos al 70% de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L., podemos inferir que ambas muestras pueden inhibir el radical DPPH. Sin embargo, la diferencia radica en que *Piper aduncum* L. (Matico) inhibe en mayor cantidad el radical DPPH en comparación con *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara). Según el autor Bermúdez Riofrío (2017), su investigación demuestra que el porcentaje de captación del radical DPPH en la especie *Piper peltatum* L., que pertenece a la misma familia que las especies estudiadas en este trabajo, mostró un porcentaje de inhibición del 15.71 % para una concentración de 1 mg/mL del extracto, del 9.46 % para 0.5 mg/mL y del 5.45 % para 0.2 mg/mL. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el presente estudio para *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara), cuyos valores fueron similares a los

expuestos por la autora. En contraste, *Piper aduncum* L. mostró resultados más altos a la misma concentración de extracto.

Por otro lado, el autor Puertas et al. (2009) menciona que la especie *Piper peltatum* L. posee capacidad antioxidante, atribuida a la presencia de metabolitos en su aceite esencial. Los mismos metabolitos fueron reportados en el presente estudio para las muestras vegetales de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L. Además, el autor Correa et al. (2015), en su investigación sobre ocho especies de piperáceas, demostró que las especies *Piper eripodon*, *Piper crassinervium* y *Pothomorphe umbellata* L. presentaron una mejor actividad antioxidante gracias a la presencia de metabolitos como alcaloides, fenoles, taninos, flavonoides, saponinas y antraquinonas, los cuales también están presentes en las especies de este estudio.

La autora Gil Padilla (2019), aplicando el método DPPH, demostró que las hojas de *Piper aduncum* L. presentaron actividad antioxidante equivalente a 66.03 ± 5.87 mM de Trolox por 1 g de muestra seca. Esto indica que las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) contienen una buena cantidad de polifenoles y una actividad antioxidante notable, lo que coincide con los datos reportados en este estudio, ya que *Pothomorphe umbellata* L. presentó valores de porcentaje de inhibición del radical DPPH más bajos. Asimismo, un estudio realizado por Alvarado Santillán (2019) evidenció que *Piper peltatum* L. contiene una alta diversidad de metabolitos con elevada capacidad antioxidante. De este modo, se confirma que las especies vegetales estudiadas comparten la misma familia y poseen capacidad antioxidante.

En conclusión, ambas muestras objeto de estudio, *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L., tienen capacidad antioxidante y pueden inhibir el radical DPPH.

CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L. (Matico) presentó en mayor cantidad flavonoides y fenoles frente al extracto de *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara); respecto a la cuantificación de polifenoles totales se observó que *Piper aduncum* L. (Matico) presentó 988 ug/mL eq-AG por encima de *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara). Además, *Piper aduncum* L. (Matico) demostró capacidad superior para inhibir el radical DPPH, alcanzando un incremento del 23.692 % en la concentración máxima (1mg/mL) del extracto en comparación *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara).
2. El porcentaje de humedad de *Piper aduncum* L. (Matico) fue del 72.55 %, mientras que el de *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara) alcanzó el 69.84 %. En cuanto a la solubilidad de los extractos al 70 %, *Piper aduncum* L. (Matico) mostró una mayor solubilidad en agua destilada y metanol, mientras que *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara) fue más soluble sólo en agua destilada. El porcentaje de rendimiento fue del 17.12 % para el *Piper aduncum* L. (Matico) y del 15.68 % para la *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara). En el análisis fitoquímico cualitativo se evidenció que *Piper aduncum* L. contiene más flavonoides en comparación de *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara) que además presentó fenoles y saponinas.
3. Los resultados en tanto a las concentraciones de polifenoles totales fueron de 0.3503 g/mL equivalente de ácido gálico por cada 100 gramos de materia seca para *Piper aduncum* L. (Matico), y de 0.2396 g/mL equivalentes de ácido gálico por cada 100 gramos de materia seca para *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara). Al comparar los resultados, se observa que *Piper aduncum* L. (Matico) presenta un contenido de 0.1107 g/mL equivalentes de ácido gálico mayor al de *Pothomorphe umbellata* L.
4. La actividad antioxidante de los extractos etanólicos mostró un porcentaje de inhibición del 41.418 % para *Piper aduncum* L. (Matico) y del 17.726 % para *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara), lo que indica que *Piper aduncum* L. (Matico) presenta una mayor actividad antioxidante en comparación con *Pothomorphe umbellata* L. (Sajra máscara).

RECOMENDACIONES

“A LAS AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO”

- Fomentar la investigación, mediante la constante actualización de equipos, reactivos y materiales de laboratorio para estudiantes de posgrado y tesis como medida para fomentar la investigación académica y científica. Además, la disponibilidad de supervisión y asesoramiento por parte de investigadores expertos en el campo brindaría un apoyo invaluable para el desarrollo de las investigaciones de los tesis.

“A LOS DOCENTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA”

- Involucrar a los estudiantes en la investigación de plantas de manera significativa y práctica, fomentando su curiosidad científica y apreciación por la biodiversidad.

“A LOS ALUMNOS DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA”

- Investigar más sobre el efecto antiinflamatorio de las plantas estudiadas, especialmente en Cusco, donde la información es escasa. Estos estudios podrían permitir identificar nuevas opciones terapéuticas.
- Realizar estudios adicionales sobre la formulación de un preparado magistral con los principios activos de las plantas, para mejorar su absorción en el organismo. Estas investigaciones podrían mejorar la eficacia y seguridad de su uso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gallegos Zurita. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Scielo. 2016; 77(4).
2. Moyano Aguay MB. Determinación de la Actividad Diurética del Extracto Hidroalcohólico de Raíz de *Piper peltatum* L. en *Rattus norvegicus*. [Tesis] , editor. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2019.
3. Bermúdez Riofrío JC. Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria y Citotóxica in vitro de Hojas de *Piper peltatum* L. [Tesis] , editor. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2017.
4. Soto Vásquez MR. Estudio Fitoquímico y Cuantificación de Flavonoides Totales de las Hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la Region del Amazonas. In *Crescendo*. Institucional. 2015; 6(1).
5. Gil Padilla YL. Actividad Antioxidante y Contenido de Polifenoles del Extracto Metanólico de las Hojas de *Piper aduncum* L. (Matico). [Tesis] , editor. Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles Chimbote.; 2019.
6. Elejalde Guerra J. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*. 2001; 18(6).
7. Online SSEL. *Revista Panamericana de Salud Pública*. [Online]; 1997. Acceso 22 de Enero de 2023. Disponible en: <https://scielosp.org/pdf/rpsp/1997.v1n5/399-400/es>.
8. Junes Olivera R. Evaluación de la actividad antioxidante in vitro y efecto regenerador in vivo de una crema cosmética con extracto liofilizado de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) [Tesis] , editor. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
9. Coronado M, Vega S, Vásquez M, Radilla C. Antioxidantes: Perspectiva Actual para la Salud Humana. *Scielo*. 2015; 42(2).
10. Heredia Huarino D. *Piper* L., ¡Un Caos Generado por la Incapacidad de Ver! [Artículo] , editor. [Arequipa]: Universidad Nacional de San Agustín; 2010.
11. Mendoza Valdivia HG, Astete Núñez B. Efecto Antidiarreico del Extracto Hidroalcohólico de *Piper peltatum* L. (Santa María), en Ratas albinas. [Tesis] , editor. Lima: Universidad María Auxiliadora; 2022.
12. Grupo Técnico de Expertos en Plantas Medicinales OPS/OMS. Situación de las Plantas Medicinales en Perú. 2nd ed. OPS/OMS GTdEePM, editor. Lima: Panamericana; 2018.
13. García Bacallao L, Rojo Domínguez D, García Gómez V, Hernández Ángel. Plantas con Propiedades Antiinflamatorias. *Rev Cubana Invest Biomed*. 2002; 21(3).
14. 2019 ©OPDIS. SITUACIÓN DE LAS PLANTAS MEDICINALES EN PERÚ; 2018.
15. Brack A. *Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú* Casas CdERA“dl, editor. Cusco: CBC; 1999.

16. Madero GA. Conexión Cinvestav. [Online]; 2021. Acceso 2 de Agosto de 2022. Disponible en: <https://conexion.cinvestav.mx/Publicaciones/eval250an-efecto-antiinflamatorio-y-analg233sico-de-los-flavonoides>.
17. Lock O, Rojas R. Química y Farmacología del Piper aduncum L. ("Matico"). Revista de Química. 2004; 1(1).
18. Delgado Paredes G, Kato M, Vásquez Dueñas , Minchala Patiño , Rojas Idrogo C. Cultivo de Tejidos de Piper sp. (Piperaceae): Propagación, Organogénesis y Conservación de Germoplasma in Vitro. Revista Colombiana de Biotecnología. 2012; 14(2da).
19. Noorasmah Saupi PLRAMHZ. Morphological characterization and nutrient assessment of wild pepper, Piper umbellatum L. (Piperaceae) grown in Sarawak, Malaysia. Revista de fitología 2021. 2021; 13(4).
20. Noriega P, Mosquera T, Abad J, Cabezas D, Piedra S, Coronel I, et al. COMPOSICIÓN QUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL PROVENIENTE DE LA HOJAS DE Piper pubinervulum C. DC PIPERACEAE. Revistas de Ciencias de la Vida. 2016; 24(2).
21. Pullaguari Ochoa MJ. Aislamiento, Caracterización y Actividad Antifúngica de Metabolitos Secundarios Aislados a Partir de la Especie Piper umbellatum L. [Tesis] , editor. Loja Ecuador: Universidad Tecnica Particular de Loja; 2014.
22. Gallegos-Zurita M. Las plantas Medicinales: Principal Alternativa Para el Cuidado de la Salud, en la Población Rural de Babahoyo, Ecuador. Anales de la Facultad de Medicina Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador. 2016; 77(4).
23. Ore Areche F, Ruiz Rodríguez A, Ticsihua Huaman J, Corilla Flores DD. "Piper aduncum L. (matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y Covid-19. Scielo. 2021; 4(12).
24. Correa Navarro YM, Palomino García LR, Marino Mosquera O. Actividad antioxidante y antifúngica de piperaceas de la flora colombiana. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2015; 2(19).
25. Cuvi Cuvi JJ. Estudio de la actividad biológica in vitro de extractos de Bixa Orellana l., Carica Papaya l., Piper Aduncum l. contra patógenos vegetales. [Tesis] , editor. Ecuador: Universidad Estatal Amazónica ; 2013.
26. Puertas Mejía M, GómezChabala L, Rojano B, Sáez Vega J. Capacidad Antioxidante in vitro de Fracciones de Hojas de Piper peltatum L. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2009; 14(2da).
27. López P. Estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas de las hojas de Piper Acutifolium Ruiz & Pav. (MATICO) [Tesis] , editor. Trujillo: Universidad Católica de la Salud; 2018.
28. Avalos Capristán CL. Efecto del Gel de Extracto Etanólico de Hojas de Piper aduncum en la Inflamación Inducida en Rattus rattus var. norvegicus [Tesis] , editor. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
29. Placencia Medina D. Evaluación farmacológica de Buddleia globosa ("Matico") en el tratamiento de úlcera gástrica inducida en animales de experimentación [Tesis] , editor. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2001.

30. Alvarado Santillán G. Actividad antioxidante y determinación de fenoles de extractos de matico (*Piper sp.*) en diferentes altitudes del distrito de Levanto, Amazonas [Tesis] , editor. Chachapoyas: Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; 2019.
31. Vera Ferchau K, Villena Tejada M, Vera Ferchau I, Cardona Rivero A. Actividad Antibacteriana y Citotoxicidad de Cinco Especies Vegetales de la Zona Altoandina y Amazónica de la Región del Cusco. *Ambiente, Comportamiento y Sociedad*. 2021; 2(4).
32. Jaramillo M.A., Manos P.S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). *American Journal of Botany*. 2001; 88(706 - 716).
33. Abreu O, Rodríguez A, Morgado M. Farmacognosia, farmacobotánica, farmacogeografía y farmacotimología del platanillo de Cuba (*Piper aduncum* subespecie *ossanum*). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2012; 17(2).
34. Pichardo AMHAYJM. *Piper umbellatum* - ficha informativa. [Online].; 2009. Acceso 5 de agosto de 2024. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/piperaceae/piper-umbellatum/fichas/ficha.htm#:~:text=Identificaci%C3%B3n%20y%20descripci%C3%B3n,-%C2%BFC%C3%B3mo%20reconozco%20a&text=Planta%20con%20hojas%20grandes%20y,punta%20de%20un%20ped%C3%BAnculo%20corto.>
35. Mejía Carhuanca K, Rengifo Salgado EL. *Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana*. 1st ed. Arirama EC, editor. Lima: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana; 2000.
36. Taylor L. Technical Data Report for Matico (*Piper aduncum*, *angustifolium*). [Online]; 2006. Acceso 2 de Mayo de 2023. Disponible en: <https://www.rain-tree.com/reports/matico-tech-report.pdf>.
37. Ore F, Ticsihua J, Ruiz A, Corilla D. *Piper aduncum* L. (matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y Covid-19. *Vive. Revista de Investigación en Salud*. 2021; 4(12).
38. Plazas EA, Cuca LE, Delgado WA. Flavonoides Aislados de las Inflorescencias de *Piper hispidum* Kunth (Piperaceae) y Derivados Acetilados. *Revista Colombiana de Química*. 2008; 37(2).
39. Dousseau S, De Souza I, De Castro M, Alves A, Alves E, Marques J, et al. Caracterización del limbo de *Piper aduncum* L. (Piperaceae): Análisis estructurales, histoquímicos y de sus aceites esenciales. *SciELO*. 2014; 71(1).
40. Meneses Aracely EM. Evaluación de la capacidad inhibitoria de la hialuronidasa del extracto hidroalcoholico *Piper umbellatum* L [Tesis] , editor. Chimbote: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2020.
41. Mayor Oxilia R. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Revista Instituto de Medicina Tropical*. 2010; 5(2).
42. Abanto Abanto SJ, Tocas Vigo MN. Efecto Antioxidante de los Extractos Hidroalcohólicos de los Granos Verdes y Tostados de *Coffea arabica* L. “café” [Tesis] , editor. Cajamarca: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2018.
43. Garay Warthon CB, Mamani Ccasa V. “Efecto Antibacteriano in vitro de los Aceites Esenciales de *Schinus molle* “Molle”, *Piper elongatum* “Matico”, *Luma chequen* (molina) a. gray “Arrayan” y

57. Mercado Mercado G, De la Rosa Carrillo L, Wall Medrano A, López Díaz JA, Álvarez Parrilla E. Compuestos Polifenólicos y Capacidad Antioxidante de Especies Típicas Consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria*. 2013; 28(1).
58. Pérez Nájera V, Lugo Cervantes E, Gutiérrez Lomelí M, Del Toro Sánchez C. Extracción de Compuestos Fenólicos de la Cáscara de Lima (*Citrus limetta* risso) y Determinación de su Actividad Antioxidante. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 2013; 15(3).
59. Borda Quispe JM, Mendoza Tincopa IC. Determinación Químico Bromatológica, Fitoquímica y Actividad Antioxidantes de las Semillas de *Annona muricata* (guanábana) que crece en grocio prado – Chincha. [Tesis] , editor. Ica: Universidad Nacional San Luis Gonzaga; 2019.
60. Macedo Márquez A. La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. *SciELO*. 2012; 15(2).
61. Machaca Huanca N, Huayta Orihuela H. Fagocitosis. *SciELO*. 2011; 13(1ra).
62. Elejalde Guerra J. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *SciELO*. 2001; 18(6).
63. Sampieri DRH. Metodología de la investigación. 6th ed.; 2016.
64. Pulido Suárez NJ, Cruz Carrillo A. Eficacia de los extractos hidroalcohólicos de dos plantas sobre garrapatas adultas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu*. 2013; 14(1).
65. Jurado Teixeira B, Aparcana Ataurima IM, Villarreal Inca LS, Ramos Llica E, Calixto Cotos MR, Hurtado Manrique PE, et al. Evaluación del Contenido de Polifenoles Totales y la Capacidad Antioxidante de los Extractos Etanólicos de los Frutos de Aguaymanto *Physalis peruviana* de diferentes lugares del Perú. *Revista Sociedad Quimcia del Perú*. 2016; 82(3).
66. Jurado Teixeira B, Aparcana Ataurima IM, Villarreal Inca LS, Ramos Llica E, Calixto Cotos MR, Hurtado Manrique PE, et al. Evaluación del Contenido de Polifenoles Totales y la Capacidad Antioxidante de los Extractos Etanólicos de los Frutos de Aguaymanto *Physalis peruviana* de diferentes lugares del Perú. *Revista Sociedad Quimcia del Perú*. 2016; 82(3).
67. Vera Ferchau K, Villena Tejada M, Vera Ferchau I, Cardona Rivero AK. *Fitofarmacopea del Cusco*. 1st ed. Sierra Herrera JL, Vargas Prado JA, editores. Cusco: Alpha Servicios Graficos S.R.L; 2019.
68. Espinoza Luna K. Secado por lecho fluidizado de hojas de Matico (*Piper aduncum* L.) y Malva (*Malva sylvestris*), evaluación de la capacidad antioxidante y aceptación sensorial de sus filtrantes. [Tesis] , editor. Lima: Universidad Nacional Agraria de la Selva; 2018.
69. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Serie Ciencia y Tecnología. 1st ed. Pinzón R, editor. Bogotá: Convenio Andrés Bello; 2000.
70. Reza Tabaraki ZY, Hossein Ali AG. Chemical Composition and Antioxidant Properties of *Malva sylvestris* L. *Journal of Research in Agricultural Science*. 2011; 8(1ra).
71. Varillas Allania AR, Ttito Delgado DM. Actividad Diurética del Extracto Etanólico de las Hojas de Matico (*Buddleja globosa*) en Rata [Tesis] , editor. Lima: Universidad Inca Garcilazo de la Vega ; 2018.

72. Carmona Hernandez O, Fernandez Mds, Palmeros Sanchez B, Lozada Garcia JA. Actividad Insecticida de Extractos Etánolicos Foliareos de nueve Piperaceas en *Drosophila melanogaster*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 2014; 30(Pg 67-73).
73. Paredes Sanchez G, Ruiz Miranda M. "Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos vegetales de los géneros ASPIDOSPERMA Y PIPER frente a cepas de *Pseudomonas*" [Tesis] , editor. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2014.
74. Mendoza Valdivia HG, Astete Núñez B. Efecto Antidiarreico del extracto hidroalcohólico de *Piper peltatum* L. (Santa María), en ratas albinas. [Tesis] , editor. Lima: Universidad María Auxiliadora; 2022.
75. Torres Polanco JG. Efecto Comparativo de las Variaciones Producidas en los Constituyentes Funcionales y Capacidad Antioxidante durante el Procesamiento de Harinas Tostadas de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild), Cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) y Kiwicha (*Amaranthus* [Tesis] , editor. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2018.
76. Oliveira Miranda M, Velázquez D, Bermúdez A. La Investigación Etnobotánica Sobre Plantas Medicinales. Revista de Ciencia y Tecnología de América. 2005; 30(8va).

ANEXOS

Anexo N° 1. Ficha de recolección de la especie vegetal *Piper aduncum* L. “Matico”

Características		Detalles
Nombre Científico	<i>Piper aduncum</i> L.	
Nombre Común	“Matico”	
Fecha de Recolección	9/11/2023 - 26/11/2023	
Nombre de la Localidad	Departamento: Cusco Provincia: La Convención Distrito: Santa Teresa Comunidad De: Sullucuyo	
Tipo de Vegetación:	Hábitad	silvestre
	Tipo	Hierba () Arbusto (x) Árbol ()
	Abundancia	Común (x) Escasa () Rara ()
Tamaño	Hasta 3.5 m	
Parte Recolectada	Hojas Tallos	
Época de Florecimiento		
Usos	Antibacterianas, antioxidantes, antifúngicas, antiaterogénicas, antiinflamatorias, antitusígeno y cicatrizante entre otras.	
Nombre Completo del Informante	-Carlos Radio Figueroa (poblador)	
Nombre de los Recolectores	- Estefani Tapia Maruri - Marlon Roberto Morochara Soria	

Fuente: Tapia, E y Morochara, M (2023)

Anexo N° 2. Ficha de recolección de la especie vegetal *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

Características		Detalles	
Nombre Científico	<i>Pothomorphe umbellata</i> L.		
Nombre Común	“Sajra máscara”		
Fecha de Recolección	9/11/2023 - 26/11/2023		
Nombre de la Localidad	Departamento: Cusco Provincia: La Convención Distrito: Santa Teresa Comunidad: Sullucuyo		
Tipo de Vegetación:	hábitad	silvestre	
	Tipo	Hierba (x) Arbusto () Árbol ()	
	Abundancia	Común (x) Escasa () Rara ()	
Tamaño	Hasta 1 m		
Parte Recolectada	Hojas Tallos		
Época de Florecimiento			
Usos	Antibacterianas, antioxidantes, antifúngicas, antiaterogénicas, citotóxicas, analgésicas, antiinflamatorias, entre otras		
Nombre Completo del Informante	Carlos Radio Figueroa (poblador)		
Nombre de los Recolectores	- Estefani Tapia Maruri - Marlon Roberto Morochara Soria		

Fuente: Tapia, E y Morochara, M (2023)

Anexo N° 3. Ficha de prueba de solubilidad preliminar fitoquímico de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara”

Prueba	SOLVENTES	Resultado	
		<i>Piper aduncum</i> L. “Matico”	<i>Pothomorphe umbellata</i> L. “Sajra máscara”
Solubilidad	Etanol absoluto	-	-
	Acetona	-	-
	Cloroformo	-	-
	Éter	-	-
	Agua destilada	++++	++++
	Metanol	+++	++
	Etanol 40%	++	++
	Etanol 70%	++	++

Fuente: Tapia, E y Morochara, M (2023)

Anexo N° 4. Ficha de recolección de datos

Fecha:

Cuantificación de polifenoles totales de la muestra del extracto etanólico al 70% de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara” mediante método químico del radical Folin- Ciocalteu.

N° de Tubo	Extracto	Reactivo Folin- Ciocalteu (mL)	Abs (nm)
B			
C1			
C2			
M1-mat			
M2-mat			
M3-mat			
M1-Saj			
M2-Saj			
M3-Saj			

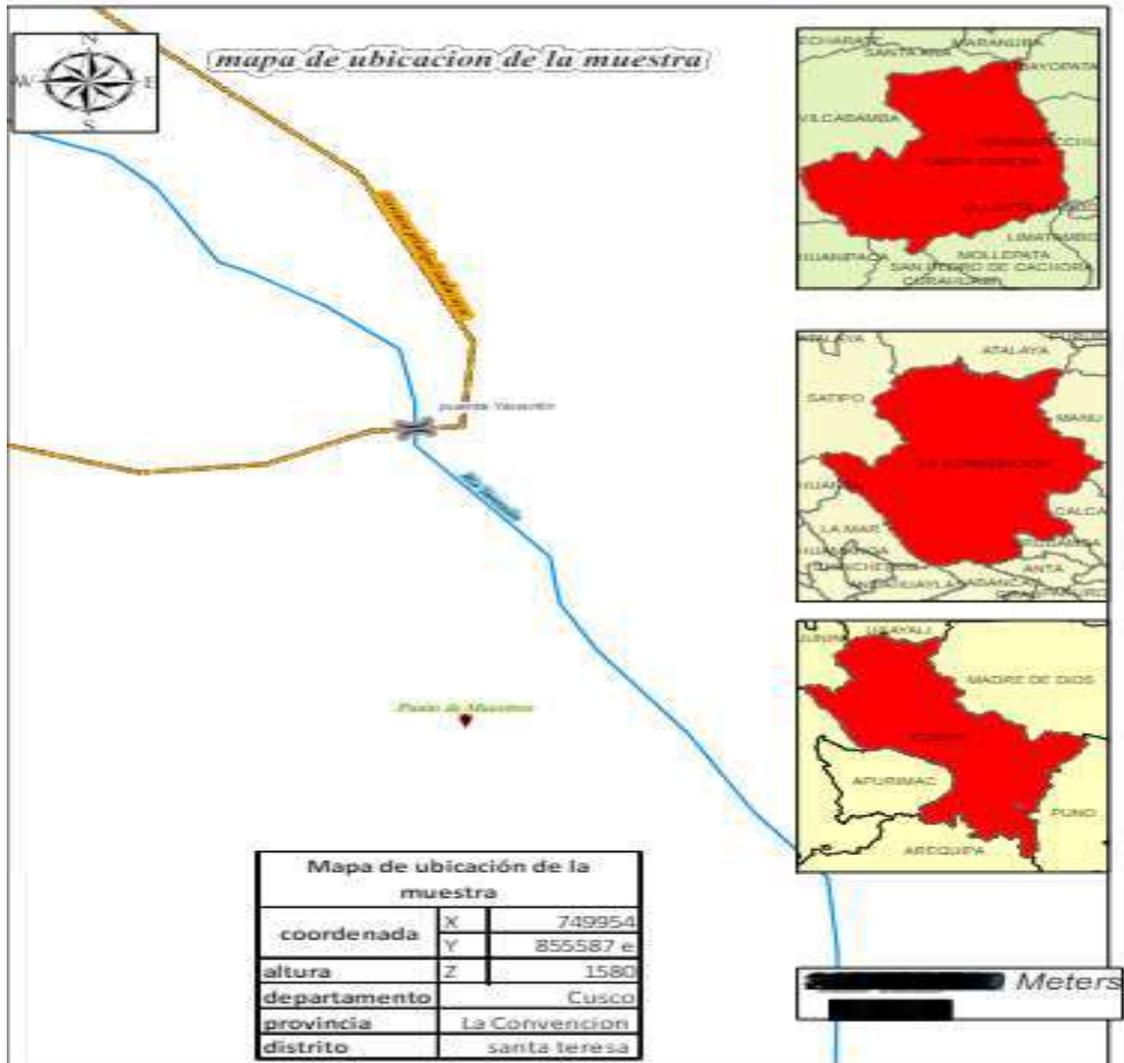
Actividad antioxidante de los extractos etanólicos de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Pothomorphe umbellata* L. “Sajra máscara” mediante método químico del radical DPPH.

N° de Tubo	Extracto	DPPH (mL)	Abs nm
B			
C1			
C2			
M1-mat			
M2-mat			
M3-mat			
M1-Saj			
M2-Saj			
M3-Saj			

Donde:

- **B:** Blanco
- **C1 y C2:** Control para DPPH sin extractos.
- **M1-mat, M2-mat, M3- mat:** Pruebas para extractos etanólicos al 70% de *Piper aduncum* L. "Matico"
- **M1-Saj, M2-Saj, M3-Saj:** Pruebas para extractos etanólicos al 70% de *Pothomorphe umbellata* L. "Sajra máscara"

Anexo N° 5. Recolección de las especies vegetal en la provincia de la Convención distrito de Santa Teresa



Fuente. Obtenido de Google Maps (2023).

Anexo N° 6. Certificado de determinación taxonómica de las especies vegetales



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- **APARTEADO PASTAL**
N° 821 - Cusco - Perú
- **PAU** 230130 - 230131 - 232132
- **RECTORADO**
Calle Tigua N° 127
Teléfono: 222271 - 234881 - 234181 - 234188
- **Ciudad Universitaria**
Av. De la Cultura N° 723 - Teléfono 226641 - 222121 - 232750 - 232759 - 232228
- **CENTRAL TELEFÓNICA** 227108 - 252118
242811 - 242816 - 242817 - 242818
- **LOCAL CENTRAL**
Plaza de Armas 18
Teléfono: 227121 - 227121 - 224613
- **MUSEO PERÚ**
Calle del Almirante N° 383 - Teléfono: 227281
- **CENTRO AGROBIOQUÍMICO K'AYRA**
San Antonio de Cusco - Teléfono: 227140 - 227260
- **COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"**
Av. De la Cultura N° 723
"Estado Universitario" - Teléfono: 227190

HERBARIO VARGAS CUZ

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 22-2023-HVC-FCB-UNSAAC

La Directora del Herbario Vargas CUZ, Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: **Estefani Tapia Maruri** y **Marlon Roberto Morochara Soria**, Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNSAAC; han presentado a la Dirección del Herbario Vargas CUZ, dos (02) muestras botánicas para su determinación taxonómica (expediente N° 527173), para realizar el proyecto de investigación de tesis, **"ESTUDIO FITOQUÍMICO, CUANTIFICACION DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE MATICO COLORADO Y MATICO BLANCO AL 70%"**, las que al ser diagnosticadas por el Mgr. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del herbario, concuerdan con las siguientes especies; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN
1	Piperaceae	<i>Piper aduncum</i> L.	"matico"
2	Piperaceae	<i>Pothomoplia umbellata</i> L.	"ajira marcara"

Se le espide la presente certificación a petición formal de los interesados para los fines que vieran por conveniente.

Cusco, 10 de mayo de 2023


Mg. María Luisa Ochoa Cámara
Directora del Herbario Vargas CUZ



Anexo N° 7. Archivo Fotográfico

I. Recolección de las especies vegetales

Fotografía 1. Muestra de matico *Piper aduncum* L.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M. (Mayo 2023)

Fotografía 2. *Piper aduncum* L. (matico) e inflorescencia



Fuente: Tapia, E y Morochara, M. (Mayo 2023)

Fotografía 3. Muestra de Sajra máscara *Pothomorphe umbellata* L. *Fotografía 4.* Hoja de *Pothomorphe umbellata* L.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M. (Mayo 2023)



Fuente: Tapia, E y Morochara, M. (Mayo 2023)

II. Preparación de los extractos etanólicos al 70% de *Piper aduncum* L. y *Pothomorphe umbellata* L.

Fotografía 5. Muestra seca de Matico *Piper aduncum* L.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M. (Agosto 2023)

Fotografía 6. Muestra seca de Sajra máscara *Pothomorphe umbellata* L.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M. (Agosto 2023)

Fotografía 7. Molienda de las muestras vegetales



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Agosto 2023)

Fotografía 8. Pesado de las muestras molidas



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Agosto 2023)

Fotografía 9. Preparación de los extractos etanólicos



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Septiembre 2023)

Fotografía 10. Filtrado De los extractos etanólicos



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Septiembre 2023)

Fotografía 11. Segundo filtrado de os extractos etanólicos con carbón activado



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Septiembre 2023)

III. Porcentaje de humedad

Fotografía 12. Pesado de las muestras y colocación en las placas Petri por duplicado



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Mayo 2023)

Fotografía 13. Muestras en estufa



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Mayo 2023)

Fotografía 14. Condiciones de secado para determinación de porcentaje de humedad.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Mayo 2023)

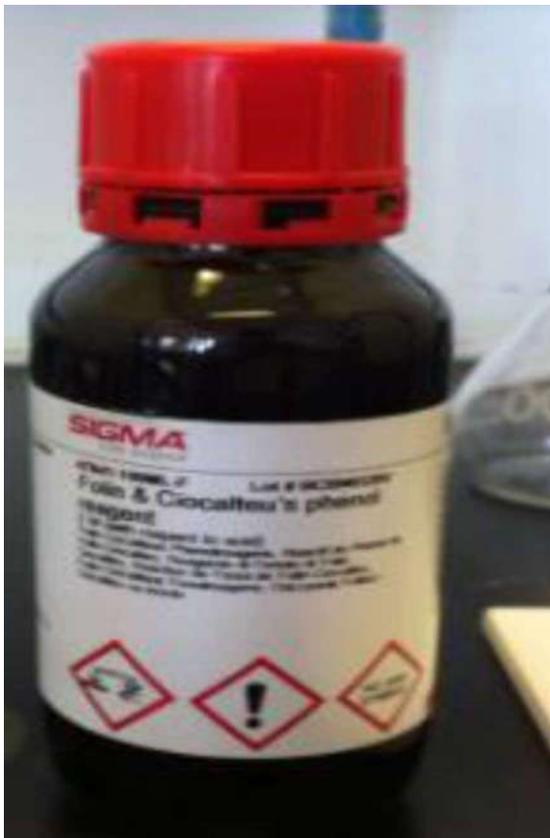
IV. Reactivos usados para las pruebas de análisis preliminar, cuantificación de polifenoles y actividad antioxidante.

Fotografía 15. Reactivos usados para análisis de preliminar fitoquímico.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Septiembre 2023)

Fotografía 16. Reactivo de Folin ciocalteu



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Septiembre 2023)

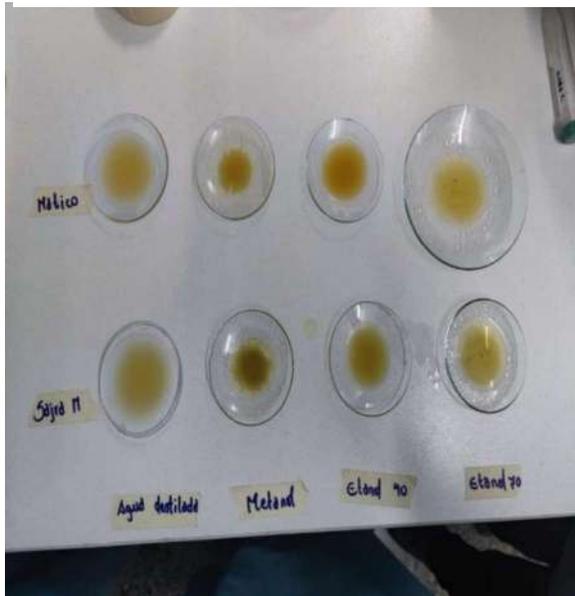
Fotografía 17. Reactivo DPPH



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Septiembre 2023)

V. Pruebas de solubilidad de los extractos etanólicos al 70 % de Matico y Sajra máscara.

Fotografía 17. Pruebas de solubilidad en agua destilada, metanol, etanol de 40° y etanol 70°.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Octubre 2023)

Fotografía 18. Pruebas de solubilidad en etanol absoluto, acetona, cloroformo y éter.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Octubre 2023)

Fotografía 19. Pruebas de solubilidad en el laboratorio.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Octubre 2023)

VI. Pruebas para la cuantificación de polifenoles mediante Folin Ciocalteu.

Fotografía 20. Preparación, forrado y rotulado de material.



Fotografía 21. Disolución de los extractos etanólicos.



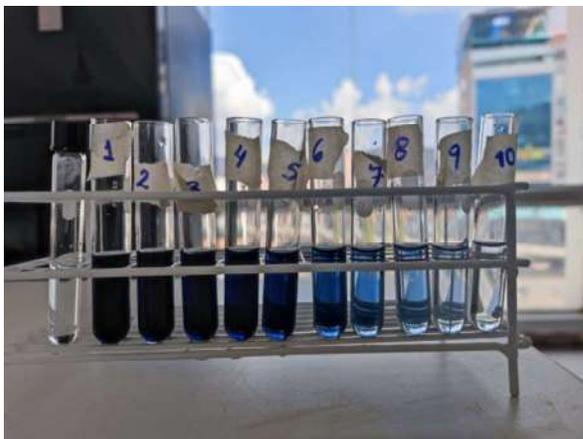
Fotografía 22. Preparación de la solución madre de las muestras de Matico y Sajra máscara.



Fotografía 23. Muestras en baño maría durante 40 minutos



Fotografía 24. Curva patrón de ácido gálico.



Fotografía 25. Lecturas en el espectrofotómetro.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Octubre 2023)

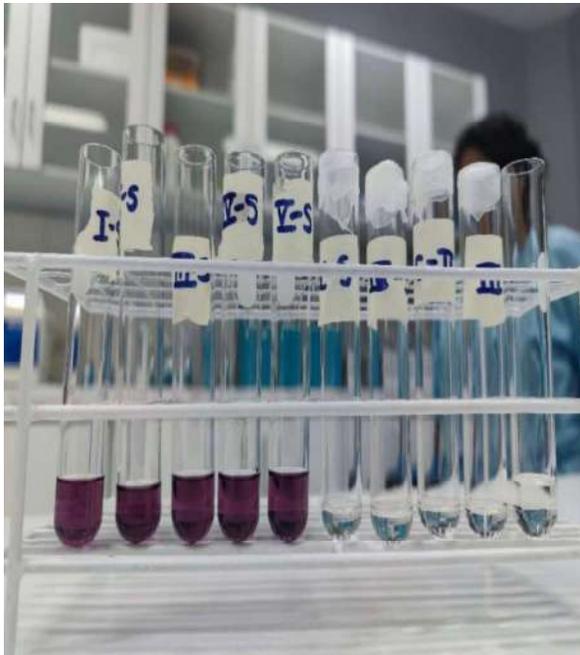
VII. Pruebas para la capacidad antioxidante mediante DPPH

Fotografía 26. Preparación de las muestras.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Noviembre 2023)

Fotografía 27. Muestras de Sajra máscara y matico con el reactivo DPPH.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Noviembre 2023)

Fotografía 28. Curva patrón trolox.



Fuente: Tapia, E y Morochara, M (Noviembre 2023)

Anexo N° 9. Cálculos para la cuantificación de polifenoles: Sajra Máscara

1.0155 g de materia seca disueltos en 100 mL

Sajra Máscara:

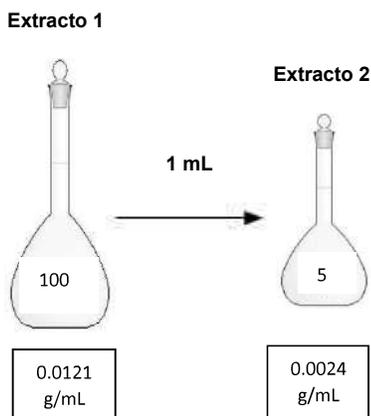
Abs = 0.467

Y = 0.0381x + 0.0031

$$x = \frac{y - 0.0031}{0.0381}$$

$$x = \frac{0.467 - 0.0031}{0.0381}$$

X = 12.17 ug/mL eq-AG



12.17 ug/mL eq-A.G.....0.5 mL extracto (2)

X.....5 mL de extracto (2)

X = 121.7ug/mL eq-AG contenido en 5 mL de extracto (2)

121.7 ug/ml eq-AG..... 5 mL de extracto (2)

X.....1 mL de extracto (1)

X = 24.34 ug/mL eq-AG contenido en 1 mL de extracto (1)

24.34 ug/mL eq-AG.....1 mL de extracto (1)

X.....100 mL de extracto (1)

X = 2434 ug/mL eq-AG contenido en 100 mL de extracto (1)

2434x 10⁻⁶ g/ mL eq-AG1.0155 g en materia seco

X.....100 g de muestra seca

X = 0.2396 g/mL contenido en 100 gramos de muestra seca sajra máscara