

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, ESPECTROSCÓPICAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70% SECADOS POR DOS MÉTODOS (LIOFILIZADO Y CALOR SECO) DE LA ESPECIE VEGETAL *Piper peltatum* L. "SANTA MARIA"

PRESENTADO POR:

Br. DANIELA TAPIA MARURI

Br. OSCAR BENITO CASTRO

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

ASESORA:

Dra. LELIA MARIA RODRIGUEZ TORRES

CO-ASESORA:

Dra. EMMA JESUS URRUNAGA DE ROSAS

**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 comparativo de las propiedades Físico-Químicas, espectroscópicas y capacidad antioxidante de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (Liofilizado y calor seco) de la especie vegetal Piper peltatum L. "Santa María".

presentado por: Oscar Benito Castro con DNI Nro.: 75951532 presentado por: Daniela Tapia Maruri con DNI Nro.: 74140116 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, 25 de noviembre de 2024


Firma

Post firma LEIZA M. RODRIGUEZ TORRES

Nro. de DNI 23963086

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: old: 27259:409297320

Tapia Maruri Daniela - Beni Tapia Maruri Daniella...

TESIS FINAL.docx

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:409297320

Fecha de entrega

25 nov 2024, 7:21 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

25 nov 2024, 12:16 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

TESIS FINAL.docx

Tamaño de archivo

11.8 MB

143 Páginas

29,885 Palabras

169,277 Caracteres




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 15 palabras)

Fuentes principales

- 8%  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

A mis padres por el apoyo, a mis hermanos Antoni, Hadelyn, Alex, Edwin. Dedico este trajo en especial a mi hermana Liset quién tuvo mucha fé en mi y surgió mucho de lo que soy ahora y le debo mucho; además sigo aprendiendo de ella cada día. Ellos siempre tuvieron una palabra de aliento y apoyo para cumplir con mis metas de las cuales hoy una de ellas es alcanzada, gracias.

Oscar Benito Castro

A mis amados padres Juana Maruri y Braulio Tapia por haber confiado en mi siempre y por haberme incentivado a seguir adelante y luchar por mis sueños, a mis queridos hermanos Zenayda, Anita, Tania, Emperatriz, Estefani, Brayan por siempre haber confiado en mí, y acompañarme en cada paso que he dado, por el cariño y el apoyo moral para lograr esta ansiada meta, gracias de todo corazón.

Daniela Tapia Maruri

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro más profundo agradecimiento a todas las personas que nos han acompañado y apoyado en el proceso de realización de esta tesis. Su ayuda ha sido invaluable, y sin ellos este trabajo no hubiera sido posible.

Queremos agradecer a nuestra asesora, Dra. Lelia Maria Rodriguez Torres, por su inestimable orientación y apoyo a lo largo del desarrollo de esta tesis, también queremos agradecer a la Dra. Emma Jesus Urrunaga de Rozas por habernos orientado y animado a realizar este trabajo de investigación.

Queremos agradecer también a nuestros docentes de escuela profesional de Farmacia y Bioquímica por habernos brindado su apoyo y compartido el conocimiento para llevar a cabo la finalización de este trabajo de investigación, también queremos agradecer a los docentes Mgt Juana Torres, Mgt Blas Porfirio Puma, docentes quienes nos orientaron, ayudaron y nos asesoraron durante el desarrollo de este trabajo, gracias por todo el tiempo y apoyo que nos brindaron, un agradecimiento especial a los docentes del departamento de Bioquímica, también agradecemos profundamente a Estefani Tapia y Marlon Morochara por su apoyo incondicional para poder culminar este trabajo de inicio a fin.

Muchas Gracias a todos.

Daniela Tapia y Oscar Benito

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS.....	IX
ÍNDICE DE ANEXOS	X
ABREVIATURAS.....	XI
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
CAPÍTULO I	6
1.1.Planteamiento del problema.....	6
1.2.Formulación del problema	8
1.3.Objetivos.....	8
1.3.1.Objetivo general	8
1.3.2.Objetivos específicos.....	8
1.5.Hipótesis.....	10
CAPÍTULO II	11
2.1.Visión histórica.....	11
2.2.Antecedentes del estudio	12
2.2.1.Antecedentes internacionales	12
2.2.2.Antecedentes nacionales	15
2.2.3.Antecedentes locales	19
2.3 Estado de la cuestión	21
2.4 Bases teórico científicas	22
2.4.1.Farmacobotánica.....	22
2.4.1.1. Familia Piperaceae y género Piper	22
2.4.1.2. Descripción botánica	23
2.3.1.3. Clasificación taxonómica de acuerdo al “HERVARIO VARGAS CUZ”	23
2.4.1.4. Hábitat.....	23
2.4.1.5. Composición química	24
2.4.1.6. Nombres comunes de <i>Piper peltatum</i> L.	24
2.4.1.7. Formas de uso “Santa Maria”	24
2.4.1.8. Lignanós y neolignanós.....	26

2.4.1.9. Flavonoides	26
2.4.2. Efecto antioxidante	27
2.4.2.1. Estrés oxidativo en la salud humana	27
2.4.2.2. Especies oxidantes y radicales libres	27
2.4.2.3. Fuentes de radicales libres	28
2.4.2.4. Antioxidantes	32
2.4.2.5. Sistema de defensa antioxidante	34
2.4.3. Antioxidantes de origen vegetal	37
2.4.3.1. Polifenoles	37
2.4.3.2. Mecanismo de acción de antioxidantes polifenoles	37
2.4.3.3. Clasificación de los compuestos fenólicos	38
2.4.3.4. Actividad biológica de los compuestos polifenólicos	38
2.4.4. Liofilización, método de determinación de la actividad antioxidante, cuantificación de polifenoles totales y cuantificación de flavonoides mediante HPLC.	39
2.4.4.1. Liofilización	39
2.4.4.2. Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil)	40
2.4.4.3. Método de Folin- Ciocalteu	40
2.4.4.4. Cromatografía líquida de alta resolución HPLC	40
CAPÍTULO III	44
3.1. Materiales	44
3.1.1. Material botánico	44
3.1.2. Materiales de campo	44
3.1.3. Materiales de escritorio	44
3.1.4. Materiales de laboratorio	45
3.2. Diseño metodológico	47
3.2.1. Tipo de estudio	47
3.2.2. Diseño de la investigación	47
3.2.2.1. Para el ensayo de la determinación de la actividad antioxidante.	47
3.2.2.2. Para el ensayo de cuantificación de polifenoles totales	48
3.2.2.2. Para el Ensayo de cuantificación de flavonoides	48
3.3.1 Variable Independiente.....	49
3.3.1.1 Extractos etanólicos al 70% de <i>Piper peltatum</i> L. "Santa maria"	49
3.3.2 Variable Dependiente	49
3.3.2.1. Cuantificación de polifenoles totales	49
3.3.2.2. Actividad antioxidante de los extractos etanólicos al 70% secados mediante dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L.	50
3.3.2.3. Cuantificación de flavonoides mediante HPLC.....	51
3.4. Variables no implicadas	51
3.5. Procedimiento de la investigación	53

3.6. Flujiograma de desarrollo del proyecto.....	62
3.7. Técnicas de instrumento de recolección de datos	63
3.8. Técnicas para procesamiento y análisis de la información	63
3.9. Procedimiento general de la investigación.	63
CAPÍTULO IV	65
4.1. Ensayos preliminares	65
4.1.1. Porcentaje de humedad <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”.....	65
4.1.2. Características organolépticas de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”.....	66
4.1.3. Porcentaje de rendimiento de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”.	67
4.1.4. Determinación de la solubilidad de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”.....	68
4.1.5. Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”.....	69
4.2. Determinación de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”	70
4.2.1.Resultados curva de calibración de ácido gálico y muestras	70
4.2.2.Resultados del contenido de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”.	71
4.2.3.Diferencias en el contenido de polifenoles según el tipo de secado (liofilizado y calor seco) prueba T-student diferencia de medias.....	72
4.3.Actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”	75
4.3.1.Resultados del patrón trolox.	75
4.3.1.1.Curva de Calibración del patrón trolox y cálculo del IC ₅₀	75
4.3.2.Resultados de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”.	78

4.3.2.1.Captación de radicales libres del extracto etanólico al 70% secado por el método de calor seco (estufa) de <i>Piper peltatum</i> L. (Santa maria) y cálculo del IC ₅₀	78
4.3.2.1.Curva de captación de radicales libres del extracto etanólico al 70% obtenido a partir de la muestra de <i>Piper peltatum</i> L. que fue liofilizado y cálculo del IC ₅₀	81
4.4.Resultados de la identificación de flavonoides mediante HPLC de los extractos etanólicos al 70 % secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L.	86
4.4.1.Diferencias en la concentración de flavonoides según Eq rutina ug/mL según el tipo de secado (liofilizado y estufa), prueba T-Student diferencia de medias.....	93
CONCLUSIONES	96
RECOMENDACIONES.....	98
BIBLIOGRAFÍA.....	99

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales factores externos que incrementan la producción de EROs.	32
Tabla 2. Antioxidantes enzimáticos.	35
Tabla 3. Antioxidantes no enzimáticos.	37
Tabla 4. Método, reactivos e instrumentos y/o equipos usados durante la investigación.	45
Tabla 5. Diseño cuasiexperimental para la actividad antioxidante por el método DPPH.	47
Tabla 6. Diseño cuasiexperimental para la cuantificación de polifenoles totales por método folin-ciocalteu.	48
Tabla 7. Diseño cuasiexperimental para la cuantificación de Flavonoides por HPLC. ..	48
Tabla 8. Operacionalización de variables	52
Tabla 9. Procedimiento para la preparación de la curva patrón de ácido gálico y muestras de estudio.....	57
Tabla 10. Preparación de la curva de calibración de trolox.	58
Tabla 11. Preparación de las muestras de acuerdo a cada dilución y.....	59
Tabla 12. Condiciones cromatográficas para determinar mediante HPLC.	61
Tabla 13. Gradientes de los solventes usados en la fase móvil de la columna.	61
Tabla 14. Resultados de porcentaje de humedad de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María” .	65
Tabla 15. Resultados de las características organolépticas de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”.....	66
Tabla 16. Resultados de porcentaje de rendimiento de los extractos de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”	67
Tabla 17. Resultados de la solubilidad de los extractos etanólicos al 70% de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”	68
Tabla 18. Resultados del análisis fitoquímico cualitativo de los extractos etanólicos al 70% obtenidos a partir de dos formas de secado de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”	69
Tabla 19. Resultados de la elaboración de la curva patrón de ácido gálico	70
Tabla 20. Contenido de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70 % de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa maria”	71
Tabla 21. Muestras de las concentraciones de polifenoles según el tipo de secado de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”	72

Tabla 22. Prueba T-student diferencia de concentraciones de polifenoles según el tipo de secado de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa maría”.....	73
Tabla 23. Resultados de absorbancia y porcentaje de la curva patrón trolox.....	75
Tabla 24. Resultados de absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto etanólico al 70% secado por el método de calor seco de <i>Piper peltatum</i> L.; cálculo del IC ₅₀ y TEAC.....	78
Tabla 25. Resultados de absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto etanólico al 70% obtenido a partir del liofilizado, cálculo del IC ₅₀ y TEAC.	81
Tabla 26. Muestras de capacitado antioxidante % según el tipo de secado de extracto etanolito al 70% de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”.....	83
Tabla 27. Prueba T-student diferencia de capacidad antioxidante según el tipo de secado de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”	83
Tabla 28. Estándares de rutina y quercetina sus tiempos de retención.....	88
Tabla 29. Resultados de los tiempos de retención de los extractos hidroalcohólicos al 70 % secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. (Santa maria).....	88
Tabla 30. Muestras de Eq Rutina ug/mL según el tipo de secado de los extractos etanolicos al 70% de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa María”	93
Tabla 31. Prueba T-student diferencia de Eq Rutina ug/mL según el tipo de secado de <i>Piper peltatum</i> L, “Santa María”	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Piper peltatum L. “Santa María”	23
Figura 2. Ruta biosintética de metabolitos secundarios lignanos y flavonoides	26
Figura 3. Equilibrio redox fisiológico resultado del balance entre los mecanismos de oxidación y los sistemas antioxidantes celulares, (met: metionina)	27
Figura 4. Nomenclatura de las principales especies reactivas del oxígeno (ERO).....	28
Figura 5. Esquema de producción de especies activas de oxígeno	29
Figura 6. Formación de EROS vía complejos de cadena respiratoria	30
Figura 7. Donación de un electrón por parte de un antioxidante a un radical libre.	34
Figura 8. Tipos y estructuras químicas de algunos polifenoles.	36
Figura 9. Etapas del secado por liofilización.....	39
Figura 10. Reacción química del reactivo folin ciocalteu con cambio de coloración....	40
Figura 11. Esquema de equipo de HPLC (bomba, inyector, columna, detector y sistema de recogida de datos)	41
Figura 12. Procedimiento DPPH.....	59
Figura 13. Curva Patrón de ácido gálico.....	71
Figura 14. Comparación de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70 % de la especie vegetal Piper peltatum L. “Santa maria”, por los dos métodos de secado. 73	
Figura 15. Resultados de la curva patrón trolox concentración vs % de inhibición y cálculo del IC ₅₀	76
Figura 16. Resultados del porcentaje de captación del radical DPPH concentración vs absorbancia.....	77
Figura 17. Resultado de la curva de concentración vs % de inhibición del extracto etanólico al 70% secado por el método de calor seco de Piper peltatum L. frente al radical DPPH y cálculo del IC ₅₀	79
Figura 18. Resultados del porcentaje de captación del radical DPPH, concentración vs porcentaje de captación del radical DPPH del extracto etanólico al 70% obtenido a partir del secado en calor seco.	79
Figura 19. Resultado de la curva de concentración vs absorbancia del extracto etanólico al 70% obtenido a partir del liofilizado frente al radical DPPH capacidad inhibitoria a IC ₅₀	82

Figura 20. Resultados del porcentaje de captación del radical DPPH, concentración vs porcentaje de captación del radical DPPH del extracto etanólico al 70% obtenido a partir del liofilizado.	82
Figura 21. Comparación de capacidad antioxidante de los extractos etanólicos al 70 % de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa maria”, por los dos métodos de secado.	84
Figura 22. Estructuras químicas de los estándares utilizados en las pruebas.....	86
Figura 23. Cromatograma de los 2 estándares rutina y quercetina	86
Figura 24. Cromatograma de los extractos hidroalcohólicos al 70 % secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de <i>Piper peltatum</i> L.	87
Figura 25. Superposición de los cromatogramas de los extractos etanólicos al 70 % secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de <i>Piper peltatum</i> L.	89
Figura 26. Cromatograma del extracto etanólico al 70 % con los picos enumerados...89	
Figura 27. Espectro UV de cada pico enumerado y comparado con el espectro UV del estándar de Rutina.....	90
Figura 28. Superposición del espectro UV del pico número 8 y el espectro UV del estándar de rutina.	92
Figura 29. Comparación de la concentración de flavonoides de los extractos etanólicos al 70 % de la especie vegetal <i>Piper peltatum</i> L. “Santa maria” por los dos métodos de secado.....	94

ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma 1. Flujograma de Investigación.....	62
--	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1: Ficha de recolección de la especie vegetal de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa maría”	105
Anexo N° 2: Ficha de recolección de datos para análisis de porcentaje de humedad, características organolépticas (extractos), porcentaje de rendimiento de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa maría”	106
Anexo N° 3: Ficha de recolección de datos para análisis preliminar de grado de solubilidad y análisis fitoquímico de <i>Piper peltatum</i> L. “Santa maría”	107
Anexo N° 4: Ficha de recolección de datos para evaluar la actividad antioxidante, cuantificar polifenoles totales.....	108
Anexo N° 5: Identificación de la especie vegetal.....	109
Anexo N° 6: Archivo Fotográfico.....	110
Anexo N° 7: Cálculos cuantificación de polifenoles: liofilizado.....	122
Anexo N° 8: Cálculos cuantificación de polifenoles: Calor seco.....	123
Anexo N° 9: Condiciones del HPLC	124
Anexo N° 10: Resultados de HPLC de los extractos obtenidos a partir de desecado de estufa y liofilizado.....	125
Anexo N° 11: Cromatogramas del estándar y de muestras realizadas, así como los picos determinados para ver su tiempo de retención.....	126
Anexo N° 12: Ubicación geográfica	127

ABREVIATURAS

ATP: Adenosin Tri Fosfato.

AG: Ácido Galico

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

N₂O₅: Óxido Nítrico

NO₂: Óxido Nítrico y Dióxido de Nitrógeno.

SiO₂: Oxido de Silicio

SO₂: Dióxido de Sulfuro

Fe: Hierro

Cu: Cobre

Cd: Cadmio

Ni: Níquel

Cr: Cromo

Hg: Mercurio

OMS: Organización Mundial de la Salud.

TEAC: Capacidad antioxidante equivalente trolox.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como **objetivo** realizar un estudio comparativo de las propiedades físico-químicas, espectroscópicas y capacidad antioxidante de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. "Santa Maria". **Metodología**, se realizó de pruebas de solubilidad usando solventes como el agua destilada, metanol, etanol 40%, etanol 70%, etanol absoluto, acetona, cloroformo, éter. Se identificaron algunos compuestos fitoquímicos más representativos de la especie vegetal estudiada mediante tamizaje fitoquímico. Se determinó por espectrofotometría usando el reactivo de Folin Ciocalteu la cuantificación de polifenoles, se evaluó la actividad antioxidante de los extractos etanólicos al 70% mediante la metodología de la captación de DPPH. Por último, para determinar la presencia de flavonoides rutina y quercetina se usó un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC). **Resultado**: El porcentaje de humedad de las hojas de *Piper peltatum* L. fue de 72.12 %; se determinó que los extractos tienen mayor solubilidad en agua destilada, mediana solubilidad en metanol, etanol 40% y etanol 70%, el tamizaje fitoquímico presentó azúcares reductores, aminoácidos, flavonoides, taninos. Los extractos hidroalcohólicos al 70% contienen cantidades considerables de polifenoles totales expresado en equivalente de ácido gálico, con un resultado de 1181 ug/mL eq-AG presentes en 0.3016 g de extracto seco de la muestra que fue liofilizada y 1112.5 g/mL eq-AG presentes en 0.3654 g de extracto seco de la muestra que fue secado en calor seco. Los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) presentaron 36.260 % y 22.173% de inhibición del radical DPPH respectivamente para una concentración de 1mg/ml, se obtuvo un resultado de IC₅₀ 1.62 mg/mL (liofilizado) y 3.07 mg/mL (calor seco) y un TEAC de 0.111 uM /10 mg de muestra seca (liofilizado) y 0.058 uM /10 mg de muestra seca (calor seco). Por último, para la determinación de flavonoides mediante HPLC se usaron los estándares de rutina y quercetina cuyos tiempos de retención fueron 15.725 y 18.912 respectivamente; ambos extractos hidroalcohólicos al 70% presentaron cromatogramas similares con 9 picos y tiempos de retención cercanos al del estándar rutina, podría tratarse de un derivado del estándar de rutina que vendrían a ser alguna rutina glicosilada, pero exactamente no se puede afirmar que sea rutina. En **conclusión**, ambos extractos hidroalcohólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) presentaron resultados similares en los análisis preliminares, contenido de polifenoles, capacidad antioxidante, en los cromatogramas y tiempos de retención en el

análisis de HPLC dando resultados cercanos tiempo de retención del estándar de rutina pero no coincidiendo directamente, por lo que no podemos afirmar la presencia de rutina directamente, pero podría tratarse de un derivado del estándar de rutina.

Palabras Claves: Antioxidante, *Piper peltatum* L. (Santa Maria), Liofilizado, Estufa, Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

ABSTRACT

The **objective** of this work was to carry out a comparative study of the physicochemical and spectroscopic properties and antioxidant capacity of 70% ethanolic extracts dried by two methods (freeze-dried and dry heat) of the plant species *Piper peltatum* L. "Santa Maria". **Methodology**, solubility tests were performed using solvents such as distilled water, methanol, ethanol 40%, ethanol 70%, absolute ethanol, acetone, chloroform, ether. Some of the most representative phytochemical compounds of the plant species studied were identified by phytochemical screening. The quantification of polyphenols was determined by spectrophotometry using the Folin Ciocalteu reagent, and the antioxidant activity of the 70% ethanolic extracts was evaluated by DPPH uptake methodology. Finally, a high performance liquid chromatograph (HPLC) was used to determine the presence of rutin flavonoids and quercetin. **Result:** The moisture percentage of *Piper peltatum* L. leaves was 72.12 %; it was determined that the extracts have higher solubility in distilled water, medium solubility in methanol, ethanol 40% and ethanol 70%, the phytochemical screening presented reducing sugars, amino acids, flavonoids, tannins. The 70% hydroalcoholic extracts contain considerable amounts of total polyphenols expressed in gallic acid equivalent, with a result of 1181 ug/mL eq-AG present in 0.3016 g of dry extract of the sample that was freeze-dried and 1112.5 g/mL eq-AG present in 0.3654 g of dry extract of the sample that was dried in dry heat. The results obtained for the antioxidant capacity of the ethanolic extracts dried by two methods (lyophilized and dry heat) presented 36.260 % and 22.173% inhibition of the DPPH radical respectively for a concentration of 1mg/ml, an IC50 result of 1.62 mg/mL (lyophilized) and 3.07 mg/mL (dry heat) and a TEAC of 0.111 uM /10 mg of dry sample (lyophilized) and 0.058 uM /10 mg of dry sample (dry heat) were obtained. Finally, for the determination of flavonoids by HPLC the rutin and quercetin standards were used, whose retention times were 15.725 and 18.912 respectively; both hydroalcoholic extracts at 70% presented similar chromatograms with 9 peaks and retention times close to that of the rutin standard; it could be a derivative of the rutin standard that would be some rutin and quercetin. In **conclusion**, both hydroalcoholic extracts at 70% dried by two methods (lyophilized and dry heat) presented similar results in the preliminary analysis, polyphenol content, antioxidant capacity, in the chromatograms and retention times in the HPLC analysis giving results close to the retention time of the rutin standard but not directly coinciding,

so we cannot affirm the presence of rutin directly, but it could be a derivative of the rutin standard.

Key words: Antioxidant, *Piper peltatum* L. (Santa Maria), Lyophilized, Stove, High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemoriales las plantas medicinales han desempeñado un papel fundamental en la vida de los seres humanos, desde las primeras civilizaciones, el hombre ha reconocido el valor de las plantas no solo como fuente de alimento, sino también por sus propiedades medicinales (1). Según la OMS las plantas medicinales son aquellas que tienen metabolitos secundarios que están presentes en diferentes partes de la planta. Estos principios activos pueden interactuar con sistemas biológicos. Desde el punto de vista humano, muchos de estos compuestos han demostrado poseer propiedades farmacológicas, como actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana, antitumoral y neuro protectora, entre otras (2).

Con más de 4,400 especies reconocidas por sus usos tradicionales entre las poblaciones locales, el Perú se destaca como uno de los centros mundiales de recursos Fito terapéuticos. En este sentido, la familia Piperaceae que se encuentra en Perú y es una de las más reconocidas por presentar tres géneros y 830 especies. Luego haciendo mención está el género Piper se realizaron investigaciones fitoquímicas hallándose que estas especies están compuestas por metabolitos de tipo flavonoide, amida, propinilfenoles, lignanos, neolignanos, kavapironas y terpenos (2)(3).

La actividad antioxidante es producto de los grupos de sustancias que cumplen funciones muy importantes en el organismo como la de retrasar los procesos oxidativos o poder prevenir radicales libres y evitando la generación de Especies Reactivas de Oxígeno (EROs) (1). Los pueblos amazónicos poseen un conocimiento profundo y ancestral sobre las especies vegetales que son utilizadas para el tratamiento de diversas enfermedades. Entre estas plantas medicinales, destaca la *Piper peltatum* L., conocida comúnmente como "Santa María". Esta especie vegetal es solo un ejemplo de la riqueza botánica que alberga la Amazonía peruana y otras regiones amazónicas (3).

En conclusión, el estudio de especies como la *Piper peltatum* L. en la Amazonía no solo revela los beneficios potenciales para la salud que estas plantas ofrecen, sino que también resalta la importancia de integrar saberes ancestrales con el conocimiento científico contemporáneo. Todos estos conocimientos no solo enriquecen nuestra comprensión de la medicina natural, sino que también abre nuevas posibilidades para el desarrollo de tratamientos médicos más efectivos y accesibles para todas las personas.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1. Planteamiento del problema

Actualmente la exposición prolongada a la radiación ultravioleta desencadena respuestas moleculares que dañan las células de nuestro organismo; dichos daños se inician con la producción de especies reactivas del oxígeno y estos a la vez pueden causar modificaciones a nivel de componentes celulares especialmente el ADN. La oxidación química de los componentes celulares y la activación de la maquinaria celular, provocadas por el estrés oxidativo inducido por la radiación UV, actúan conjuntamente para provocar envejecimiento y como consecuencia el incremento de los índices de enfermedades crónicas y degenerativas en la población mundial (3).

Nuestro Organismo naturalmente produce radicales libres, pero estos son regulados por diferentes rutas metabólicas, el desequilibrio causado ya sea por factores internos o externos entre los antioxidantes de origen endógeno y los radicales se asocia con la muerte celular, diferentes enfermedades y envejecimiento humano (4).

Hoy en día las enfermedades crónicas y degenerativas están incrementando a nivel mundial y con ello también el interés por investigar alternativas o soluciones que puedan ayudar a prevenir, solucionar e incluso detenerlos (5) (6).

En las regiones tropicales y subtropicales, se distribuyen aproximadamente 700 especies vegetales pertenecientes al género Piper. Según la literatura revisada, se han realizado estudios para identificar los metabolitos secundarios presentes en estas especies, tales como amidas, lignanos, neolignanos, flavonoides, fenoles, terpenos y compuestos esteroides (8).

Debido a la gran cantidad de especies pertenecientes al género Piper, se destaca en particular a *Piper peltatum* L., conocido también como "Santa María". Esta planta es notable por poseer diversos compuestos antioxidantes, aunque aún no se conoce con precisión la totalidad de estos compuestos. Sin embargo, uno de los antioxidantes identificados en la planta es el 4-nerolidilcatecol (4-NC), un componente presente en los extractos de *Piper peltatum* L. "Santa María", reconocido como un importante producto natural con actividad antioxidante (7).

En Brasil, diversos estudios han documentado los usos tradicionales de *Piper peltatum* L., conocido como "Santa María". Se ha reportado que las infusiones de las hojas y raíces de esta especie vegetal tienen diferentes usos para la salud (9).

En la Amazonía peruana, las plantas medicinales representan una fuente vital de diversidad natural debido a la multitud de compuestos que sintetizan y que son favorables para la salud (10). Aún falta mucho por descubrir, determinar y redeterminar en la familia Piper de la mayoría de los herbarios del Perú (11). La mayoría de la población desconoce la composición de los metabolitos con efecto antioxidante presentes en la especie vegetal *Piper peltatum* L., conocida como "Santa María", así como el uso de esta planta medicinal, este desconocimiento podría deberse a la falta de estudios exhaustivos sobre la planta (7).

La priorización del hallazgo de polifenoles es uno de los objetivos centrales de este estudio, con el fin de identificar compuestos antioxidantes que puedan ser utilizados como alternativas en el tratamiento de afecciones que afectan a la población. Esto es particularmente relevante en la actualidad, dado que el estrés, común en la vida moderna, contribuye a la generación de radicales libres en el organismo, lo que puede desencadenar diversas enfermedades.

Dada la importancia de los compuestos antioxidantes en la prevención de enfermedades, es esencial profundizar las investigaciones sobre los antioxidantes presentes en las especies vegetales del género Piper. Además, la ausencia de investigación adecuada sobre estas plantas limita su integración efectiva en los sistemas de salud convencionales y su potencial para ofrecer tratamientos alternativos válidos. Este planteamiento busca abordar la brecha entre el conocimiento tradicional y la evidencia científica, promoviendo una integración más efectiva de las plantas medicinales en el cuidado de la salud y mejorando así la calidad de vida en comunidades que dependen de estos recursos natural.

Por tal motivo, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar la actividad antioxidante y cuantificar los polifenoles totales de la especie vegetal *Piper peltatum* L., conocida como "Santa María". De esta manera, se busca contribuir al desarrollo de tratamientos alternativos para afecciones cuya etiología se relaciona con los radicales libres, proporcionando así un estudio que sirva como un valioso aporte científico.

1.2. Formulación del problema

¿Presentarán propiedades físico químicas, espectrofotométricas, concentración elevada de polifenoles y actividad antioxidante similares los extractos hidroalcohólicos al 70 % obtenidos a partir de formas de secado (liofilizado y calor seco)?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Realizar un estudio comparativo de las propiedades físico-químicas, espectroscópicas y capacidad antioxidante de los extractos etanólicos al 70 % secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. "Santa Maria".

1.3.2. Objetivos específicos

1. Realizar la elaboración de los extractos hidroalcohólicos al 70 %, determinar el porcentaje de humedad, porcentaje de rendimiento, solubilidad y tamizaje fitoquímico cualitativo de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de *Piper peltatum* L. "Santa Maria".
2. Determinar, cuantificar y comparar los polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de *Piper peltatum* L. "Santa Maria".
3. Comparar la actividad antioxidante in vitro de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de *Piper peltatum* L. "Santa Maria", por el método de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo).
4. Identificar, reconocer y cuantificar los componentes flavonoides mediante técnica de HPLC de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de *Piper peltatum* L. "Santa Maria".

1.4. Justificación del estudio

Teórica: Es de vasto conocimiento que en nuestra localidad de Cusco existen innumerables especies vegetales que aún se siguen estudiando y otras que todavía no fueron identificadas y carecen de estudios, se trata de elaborar zonas de estudio relacionado a este tipo de plantas con grandes capacidades

antioxidantes, y el uso de dos métodos de secado liofilización y calor seco, y de qué manera podría influir en los resultados, es por ello que este trabajo está dirigido con el propósito de aportar conocimiento, cuyos resultados puedan ser una buena propuesta para ser incorporada a diferentes ciencias o trabajos de investigación futuras especialmente sobre la especie vegetal *Piper peltatum* L. (Santa maría) (12).

Práctica: Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación podrían contribuir al beneficio de la salud de la población, puesto que de ser identificada de manera positiva la actividad antioxidante y por otro lado la cantidad de polifenoles en cantidad considerable se estaría dando alternativas terapéuticas para el tratamiento de enfermedades crónicas; además dichos resultados podrían contribuir a posteriores investigaciones para especies vegetales del mismo género; así mismo con las bondades descubiertas de esta especie vegetal se puede llegar a elaborar preparados galénicos que pueden ser de mucha ayuda para los padecimientos de nuestra población.

Social: Hasta el momento se ha logrado estudiar una variedad de plantas de las cuales se conoce su composición fitoquímica el cual busca relacionar sus metabolitos con la actividad tanto antioxidante e inflamatoria gracias a la presencia de flavonoides, taninos, entre otros compuestos poli fenólicos que son consideradas sustancias antioxidantes y que mantienen una estrecha relación con la actividad antiinflamatoria. Es por ello que en el afán de continuar con las investigaciones en especies vegetales y en beneficio de la salud y seguridad de la población es que cada día se intenta promover el uso la medicina verde y aprovechar las bondades que nos brinda la naturaleza (13).

Económica: Las plantas medicinales tienen una estrecha relación con la medicina moderna ya que son empleados como materia prima para la fabricación de nuevos fármacos, hoy en día para la elaboración de estos nuevos fármacos se toma en importancia la disposición química de los metabolitos secundarios o principios activos, por tal motivo la OMS ha promovido investigaciones sobre plantas medicinales puesto que el valor potencial de los medicamentos derivados de plantas medicinales contribuye de manera eminente al desarrollo tanto económico por parte de las industrias farmacéuticas y por consecuencia también de un país, con el pasar del tiempo se ha realizado estudios etnobotánicos con el

objetivo de recaudar información sobre especies vegetales que son usadas como tratamiento alternativo gracias a los diferentes compuestos químicos con actividad biológica para el mejoramiento de la salud (14).

1.5. Hipótesis

Los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. (Santa maria) presentan propiedades físico-químicas y espectrofotométricas similares; así mismo presentan una elevada cantidad de polifenoles y actividad antioxidante.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO – CONCEPTUAL

2.1. Visión histórica

El uso de las plantas medicinales como tratamiento alternativo se originó en la antigüedad y aún se sigue dando uso incesante para aliviar enfermedades, actualmente toda la evidencia científica sobre la medicina herbaria reunida a través de los años se está incluyendo en muchos sistemas de salud como una terapia alternativa (15).

Desde la década de los años setenta se intensificó las investigaciones sobre los radicales libres y los antioxidantes. La OMS recomendó el uso de las plantas que tienen alto contenido de flavonoides entre estos comprendidos frutas y verduras, a esos antioxidantes se les atribuyó efectos antiinflamatorios y analgésicos (16).

Muchas de las plantas son usadas en la actualidad como parte de la medicina tradicional y son considerados laboratorios naturales donde se sintetizan compuestos químicos en cantidades considerables y que a sus veces estos son considerados como fuente de compuestos químicos más importantes y entre ellos tenemos los llamados metabolitos secundarios (17).

Como parte de la composición química de las especies vegetales del género Piper reúne a 7 clases: amidas, lignanos, neolignanós, flavonoides, alcaloides, aceites esenciales entre otros, dichas investigaciones han sido intensificadas en los últimos años por que muchas de las especies de este género han mostrado actividad biológica (18).

El género Piper (Piperaceae) cuenta con 2000 especies de los cuales alrededor de 500, siendo especies nativas que también crece en Bolivia, Ecuador, Chile, Colombia, México y Asia, se ha logrado comprobar que extractos crudos del género Piper poseen actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral, citotóxica, antiinflamatorios e incluso actividad antioxidante (19).

En el Perú las especies vegetales de la familia Piperaceae son distinguidas en 3 géneros, 830 especies comprendidas entre hierbas y arbustos, de los cuales el género más rico denominado Piper, por tal motivo se presta principal atención a su taxonomía en los herbarios; ubicados principalmente en los Bosques Húmedo

Amazónicos, Bosques muy Húmedos Montanos y Premontanos entre los 100 y 2700 m de altitud. Según la Unión Internacional para la conservación de la Naturaleza considera solo 9 especies vegetales dentro del Sistema Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (20).

2.2. Antecedentes del estudio

2.2.1. Antecedentes internacionales

Vargas Huertas Luis Felipe “Estudio de metabolitos característicos y polifenoles de las especies *Capsicum annuum* y *Piper nigrum*, cultivadas en Costa Rica”, Costa Rica, 2022. Tesis de Posgrado.

El objetivo principal de este trabajo fue estudiar la composición de los metabolitos secundarios y la actividad antioxidante para las especies *Capsicum annuum* y *Piper nigrum* cultivadas en Costa Rica. La metodología se utilizó HPLC semipreparativo para aislar guineensina, usaron el método de Floin Ciocalteu para cuantificar polifenoles y para la capacidad antioxidante se usó técnica DPPH Y ORAC.

Los resultados obtenidos mostraron que el sistema de cromatografía de líquidos de ultra elevada eficacia-espectrometría de masas de alta resolución permitió la identificación de 12 compuestos destacando la capsaicina y la hidrocapsaicina, un análisis similar en *P. nigrum* reveló la presencia de 31 amidas siendo piperina la encontrada en mayor cantidad, se obtuvo un resultado de 130.5 mg AGE/g extracto y 335.8 mg AGE/100 g muestra seca, como capacidad antioxidante *piper nigrum* dio un resultado de 44.51 IC50 (μg extracto/mL). En conclusión, los análisis realizados permitieron una caracterización cualitativa y cuantitativa detallada de las muestras de *C. annuum* y *P. nigrum* de Costa Rica, lo que constituye el primer estudio en Centroamérica con este nivel de profundidad para dichas plantas (21).

Valdivia Avila A. L., Rubio Fontanills Y., Camacho Campos C., Brea Maure O., Matos Trujillo M., Sosa del Castillo M., Pérez Hernández Y. “Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de *Piper auritum* Kunth” Matanzas, 2018, Artículo científico.

El objetivo del trabajo fue evaluar las propiedades fitoquímicas y antibacterianas de extractos de hojas y raíces de plantas de *Piper auritum* Kunth, presentes en el municipio de Matanzas, Cuba. La metodología que se uso fue la realización de las

extracciones con etanol al 96% y agua destilada previamente lavada, secada y pulverizada las cuales se filtraron y concentraron en un rotaevaporador. Se determino los diferentes metabolitos que existían y se cuantificó el contenido de fenoles solubles, azúcares reductores, carbohidratos y proteínas solubles, además de evaluar la actividad antibacteriana mediante la técnica de los pocillos contra dos especies bacterianas estándar y otras asociadas a mastitis.

En los resultados obtenidos se identificó la presencia de terpenos, flavonoides, cumarinas, taninos y glucósidos cardiotónicos en los extractos de hojas y raíces, y estos poseen propiedades farmacéuticas muy considerables, las hojas poseen buena cantidad de fenoles solubles y la extracción etanólica de hojas y raíces de *Piper auritum* tuvieron un efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Con lo que se refiere al efecto que tendría frente a la mastitis, se obtuvo un buen resultado en las hojas de *Piper auritum* para contrarrestar los procesos infecciosos e inflamatorios en animales, este último por la presencia de los polifenoles de naturaleza antioxidante (22).

Bermúdez Riofrío Jahaira Carolina “Evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica in vitro de hojas de *Piper peltatum* L.” Riobamba, Ecuador, 2017, Tesis de grado.

El trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antiinflamatoria y citotóxica in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de Santamaría (*Piper peltatum* L.) (10).

En la metodología utilizada se realizó para el efecto antiinflamatorio en protocolos basados en el método Tan y Berridge. El cual consistió en combinar 100 uL de las diluciones 12.5, 25, 50, 100, 200 ppm ($\mu\text{g/mL}$) de la muestra con 140 uL de una suspensión de neutrófilos aislados en MHS (Solución Modificada de Hank's) y 10 uL del reactivo WST y luego fue llevado a una incubadora por 30 min y se agregó 50 uL de reactivo Zymosan el cual posteriormente se leyó a 450nm. Respecto a la parte citotóxica se elaboró colocando en un envase 100 uL de las diluciones de la planta a concentraciones 12.5, 25, 50, 100, 200 ppm ($\mu\text{g/mL}$) con 140 uL de una suspensión de neutrófilos aislados en MHS (Solución Modificada de Hank's) y 10 uL del reactivo WST, para luego ser llevado a una incubadora a 37 °C por 3 horas y se leyó a 450 nm y finalmente se llevó a una fórmula para verificar los resultados (10).

Entre los resultados se obtuvo que la actividad antiinflamatoria y citotóxica del extracto etanol-agua de hojas de *Piper peltatum* L., en efecto un 67.56 ± 0.46 % presentó una inhibición inflamatoria junto con un 51.22 ± 0.56 % de viabilidad celular respectivamente (10). En conclusión, se determinó que la especie objeto de estudio tiene moderado efecto antiinflamatorio y una capacidad citotóxica baja.

Sethupandiana G., Irulandi K., Mehalingam P., “Evaluación de las actividades antioxidantes y de eliminación de radicales libres de diferentes extractos de solventes de hojas de *Piper umbellatum*” India, 2017. Artículo científico.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el contenido total de fenol, flavonoides, propiedades antioxidantes y de eliminación de radicales libres de diferentes extractos de solventes de *Piper umbellatum*.

Como parte de la metodología se usaron diferentes extractos de solventes evaluados con actividad de eliminación de radicales DPPH y actividad de poder reductor. Los resultados demostraron la presencia de fenol y flavonoides fue mayor en los extractos de metanol que en los extractos de acetato de etilo y acetona, todos los extractos tienen diferentes niveles de actividad antioxidante. El extracto de metanol con solvente tiene una buena extracción y muestra una actividad antioxidante significativa. El efecto del poder reductor del extracto de metanol reveló una buena actividad antioxidante en comparación con otros extractos probados, de tal modo el estudio concluyó que el extracto de metanol de extractos de plantas enteras de *Piper umbellatum* muestra una actividad antioxidante significativa que los extractos de acetato de etilo y acetona (23).

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

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante y antimicótica de los extractos de diferente polaridad, de 8 especies de Piperaceas colectadas en el Parque Regional Natural Ucumari, en Colombia.

En la metodología usada las partes de la planta tanto tallos y hojas de especie vegetal siguió el proceso de secado, molienda y tamizado, para después extraer los metabolitos a través de un proceso de percolación con hexano, diclorometano,

y metanol. Una vez realizado el proceso de extracción a una presión reducida se procedió a evaluar la actividad antioxidante con el método DPPH y la actividad antifúngica por medio del método de placa perforada y conjuntamente se realizó la identificación de metabolitos por cromatografía de placa delgada.

Los resultados mostraron que con el extracto metanólico presentaron mejores resultados las especies vegetales *Piper eripodon* y *Piper crassinervium*, quienes presentaron mejor actividad antioxidante, por otro lado, para la actividad antifúngica las especies vegetales *Piper pesaresanum* y *Piper eripodon* presentaron un mayor porcentaje de inhibición frente a otras especies del presente estudio. El análisis fitoquímico reveló la mayor presencia de alcaloides, fenoles, taninos, terpenos, triterpenos, esteroides, saponinas, flavonoides y antraquinonas (24). En conclusión, la especie botánica *Piper eripodon* propiedades tanto antioxidante y antifúngica.

2.2.2. Antecedentes nacionales

Mendoza Valdivia Hugo Gerardo; Astete Núñez Benedicta “Efecto antidiarreico del extracto hidroalcohólico de *Piper peltatum* L. (Santa María), en ratas albinas” Lima, 2022, Tesis de grado.

El trabajo tuvo como objetivo principal determinar el efecto antidiarreico del extracto hidroalcohólico de la planta *Piper peltatum* L en ratas albinas (7).

Respecto a la metodología, se llevó un estudio experimental de forma prospectiva, longitudinal, cuantitativa. La muestra vegetal fue una cantidad considerable el cual estaba conformada por 1000 g de hojas de la planta *Piper peltatum* L y la muestra animal por 20 ratas albinas machos, dividido en grupos controles y experimentales. Los resultados mostraron que 1ml d/con de 200 mg/kg del extracto hidroalcohólico presentó actividad antidiarreica (7). En conclusión, el extracto hidroalcohólico de la *Piper peltatum* L. posee efecto antidiarreico.

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 objetivo determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en un extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico). Como parte del método de la investigación se llevó a cabo el proceso de secado, molienda, y tamizado de la especie vegetal para finalmente elaborar un extracto

metanólico al 80%, para realizar la determinación de la capacidad antioxidante se usó el método DPPH con un patrón de trolox, para la determinación de polifenoles se realizó mediante 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 /1 g de muestra seca y la actividad antioxidante por el método DPPH fue equivalente a una concentración de 66.03 ± 5.87 mM de Trolox/ 1g de muestra seca. Indicando esto que las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) presenta buena cantidad de polifenoles y una actividad antioxidante (25). En conclusión, las hojas de *Piper aduncum* L. (matico) presentan contenido de polifenoles y actividad antioxidante.

Alvarado Santillán Gíngler “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 del trabajo fue determinar la actividad antioxidante y fenoles de extractos de maticos (*Piper* sp.) en distintas altitudes del distrito de Levanto, Amazonas.

Dentro de la metodología, se recolectó la muestra vegetal a 3 diferentes altitudes se procedieron con el secado en estufa y finalmente se preparó tres tipos de extractos acuosos, etanólico y metanólico; dichos extractos fueron usados para la determinación de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH, así mismo se realizó la cuantificación de polifenoles aplicando el método de folin ciocalteu.

Tuvo como resultado algunas diferencias significativas ($\text{sig.} = 0,05$) en la altitud y el tipo de extracto; dando como resultado que a mayor altitud mayor actividad antioxidante y dentro de los extractos realizados el mejor fue el extracto acuoso frente a los extractos alcohólicos que se realizaron (25). En conclusión, se encontró diferencias significativas ($\text{sig.} = 0,05$) en la altitud y el tipo de extracto; evidenciando que a mayor altitud mayor actividad antioxidante y el mejor extracto fue el extracto acuoso frente a los extractos alcohólicos.

Ingaroca Tejeda Sharon “Composición química, actividad antioxidante y efecto fungistático sobre *Candida albicans* del aceite esencial de *Piper aduncum* L. “matico”” Lima, 2018. Tesis de Grado.

El objetivo del estudio fue determinar la composición química, la actividad antioxidante y el efecto fungistático sobre *Candida albicans* ATCC 10231 del aceite esencial de las hojas de *Piper aduncum* L. “matico”. Esta investigación presenta un enfoque cuantitativo y utiliza un diseño experimental. El aceite esencial se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor de agua y la composición química se determinó mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM). La actividad antioxidante fue evaluada mediante los métodos de captación de los radicales 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y 2,2'-azinobis (3-etilbezotiazolin)-6-sulfónico (ABTS⁺), se obtuvieron los resultados, el aceite esencial (IC₅₀ de 1,087 µg/mL y de 1,47 µg/mL para DPPH y ABTS⁺, respectivamente) mostró baja actividad antioxidante comparado con el estándar trolox (IC₅₀, 2 µg/mL y 2,68 µg/mL para DPPH y ABTS, respectivamente). Además, presentó valores bajos de TEAC de 1,839 y 17,79 µg trolox/mg para DPPH y ABTS, respectivamente, En conclusión, la actividad antioxidante y el efecto fungistático del aceite esencial de *Piper aduncum* L fueron bajos, sin embargo, el alto contenido de fenilpropanoides lo hace un candidato prometedor para futuras investigaciones (26).

Avalos Capristán César Luis “Efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* en la inflamación inducida en *Rattus 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 rattus* var. *norvegicus* (8).

Respecto a la metodología se formaron 5 grupos uno de tipo control, otro de patrón y 3 grupos expuestos al gel de extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. 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 suplantaria de la pata posterior derecha, y posteriormente se aplicó vía tópica los geles preparados con el extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. usando un pletismógrafo

para poder medirlo a los grupos problema, y como un fármaco control se empleó diclofenaco en gel de para poder comparar los resultados (8).

Los resultados mostraron que el gel elaborado a partir del extracto alcohólico de las hojas de *Piper aduncum* L. mostró un efecto antiinflamatorio, a las concentraciones de 1 %, 2 % y 4 % de la planta, frente a la inflamación inducida en ratones de raza *Rattus rattus var. norvegicus* (8).

En conclusión, se determinó que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antiinflamatorio de los grupos y del grupo patrón. El efecto antiinflamatorio podría explicarse debido a la concentración de flavonoides presentes en las hojas de *Piper aduncum* L.

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.

El trabajo tuvo como objetivo 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.

La metodología usada para un tamizaje fitoquímico fue con reactivos de coloración y precipitación. La cuantificación de flavonoides totales se realizó con el método de Kostennikova. Los resultados mostraron que en el análisis fitoquímico una gran variedad de principios activos entre ellos están presentes alcaloides, triterpenos y 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 /100 g de hoja seca, respectivamente; En conclusión, *Piper aduncum* L. presentó mayor concentración de flavonoides expresados como (17).

2.2.3. Antecedentes locales

Taipe Pardo F., Merino Quispe I., Agreda Cerna H., Huaraca Aparco R., Flores Pacheco N., Quispe Chipana S., “Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de aceites esenciales en hojas de plantas medicinales” Andahuaylas, 2023, Artículo Científico.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar los componentes bioactivos y actividad antioxidante del aceite esencial de matico (*Piper aduncum*) y la borraja (*Borago officinalis*). Método. El aceite esencial se obtuvo mediante destilación a vapor, se logró determinar el rendimiento de extracción, densidad relativa, índice de éster, índice de refracción y el porcentaje de solubilidad en solución de etanol. Los componentes bioactivos se determinaron a través de la cromatografía de masa (GC-MS), finalmente se determinó la actividad antioxidante mediante el método de radicales libres 2,2-difenil-1-picryl hidracilo (DPPH). Los resultados mostraron, los rendimientos de extracción variaron de 0,29 a 0,43 %, con una tasa de extracción positiva de 0,0367 %/ psi, densidad alrededor de 0,996 (g/mL) con resultados similares para presiones de extracción de 8 y 10 psi en ambas especies, con un índice de refracción de 1,52 para el aceite esencial y 1,33 hidrolatos y un aumento de la acidez con presión de extracción de 2,69 a 5,46 mg KOH/g. La capacidad antioxidante en las dos muestras fueron diferentes entre 14,258 a 17.030 $\mu\text{mol TEAC/mL}$ mostrando una diferencia con la presión de extracción. En conclusión, en los aceites esenciales de la especie *Piper aduncum* fue posible identificar 24 componentes químicos a para *Borago officinalis*, ambas especies presentadas como componentes principales para apiol en las tres presiones de extracción de un total de (14 %) (27).

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 objetivo del trabajo de investigación fue determinar la actividad antibacteriana y actividad citotóxica de las especies vegetales *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) de la zona altoandina y amazónica de la región del Cusco, Perú.

Como parte del método de estudio del presente estudio se llevó a sequedad la muestra, se molió y tamizó finalmente se preparó un extracto etanólico, se realizó la prueba de concentración mínima inhibitoria para determinar la capacidad antibacteriana, para lo cual se emplearon el método de macro dilución en medio líquido y cepas ATCC de *Escherichia coli* 25922, *Staphylococcus aureus* 29213, *Streptococcus pneumoniae* 49619 y *Salmonella typhimurium* 14028. Para determinar el grado de toxicidad se utilizó el ensayo de Artemia salina las pruebas de citotoxicidad con Artemia salina, demostró que, los extractos de Estrella Kisca y Queto - Queto son muy tóxicos con una CL50 de 19.639 y 58.104 respectivamente (28).

Garay Warthon César Bryan; Mamani Ccasa Vladimir “Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de *Schinus molle* “Molle”, *Piper elongatum* “Matico”, Luma chequen (molina) a. gray “Arrayan” y *Minthostachys setosa* (briq.) epling “Muña” sobre cepas de *Streptococcus mutans* (atcc 35668) Cusco – 2015”, Cusco, 2015, Tesis de grado

Este trabajo tuvo como objetivo principal valorar el efecto antibacteriano de tipo in vitro de los cuatro aceites esenciales de *Schinus molle*, *Piper elongatum*, *Luma chequen* y *Minthostachys setosa* sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) (29).

La metodología usada consistió en obtener los aceites esenciales de *Schinus molle*, *Piper elongatum*, *Luma chequen* y *Minthostachys setosa*; los cuales se pusieron en cultivos con medio Agar Muller Hinton los cuales fueron enriquecidos con sangre de cordero al 5%. Para las pruebas se usaron 13 diferentes concentraciones para cada aceite, y como grupo control positivo se utilizó la clorhexidina a la concentración 0.12% y como grupo control negativo se usó el Tween 20. Por supuesto para cada concentración diferente de aceite se realizó tres repeticiones en placas de agar Muller Hinton. Luego de 48 horas se realizó la medición de los halos para ver cuanta inhibición se tuvo (29).

Los resultados mostraron que los diámetros y radios de halos inhibición para el aceite esencial de *Schinus molle* fue en una concentración al 100% de 16.3 mm y al 75% de 14.7 mm, en lo que respecta a *Piper elongatum* a una concentración de 100% 25 mm +-1, al 75% de 21.67 mm +-0.58, al 50% de 17,67 mm +-0.58, al

30 % de 14 mm \pm 0, y al 20 % de 10 mm \pm 0, con la planta *Luma chequen*, no se mostraron halos de inhibición y en *Minthostachys setosa*, en concentraciones al 100 de 11.27 \pm 0.35 mm, al 75% de 9.33 \pm 0.58 mm, al 50 % de 8.83 \pm 0.29 mm. De esta manera queda en evidencia que todas las plantas poseían un efecto antibacteriano para la cepa de *S. mutans* algunas más en comparación que otras, pero el único que no poseía dicho efecto era *L. chequen* (29).

2.3 Estado de la cuestión

A nivel mundial el uso de plantas medicinales como terapia alternativa en afecciones de la salud está en ascenso, es por ellos que gracias a la existencia de dichas especies es que actualmente y a un futuro se pueden llegar a elaborar fármacos nuevos, pero antes es preciso conocer a mayor profundidad la composición química de estas plantas especialmente aquellas del género *Piper* y que metabolitos podrían ejercer acción terapéutica frente a los radicales libres, por ello es posible que se pueda hallar antioxidantes de origen vegetal como el ácido ascórbico (vitamina C), el tocoferol (vitamina E), y entre algunos no menos importantes los polifenoles y carotenoides (30).

Se tiene estudios del autor Puerta Megía (2009) que determinó la actividad antioxidante de extractos no alcohólicos de *Piper peltatum* L., mediante métodos de DPPH, FRAP, mostrándose buena actividad antioxidante (31).

El autor Bermúdez Riofrío (2017) (10), determinó que *Piper peltatum* presenta compuestos fenólicos, flavonoides, taninos además de que se halló cantidades considerables de compuestos fenólicos expresados en equivalentes de ácido gálico 30.36 \pm 0.96 mg en 0.0125 g de extracto y en lo que respecta a la actividad antioxidante presentó un IC₅₀ de 3891.67 mg de extracto/ μ mol de DPPH, presentándose de esta manera un efecto antioxidante evidente (10).

Por otro lado, el autor Moyano Aguay (2019) (9) halló actividad antioxidante en las raíces de *Piper peltatum* L. a una concentración de 1000 ppm con un resultado de 36.95 %, una medida regular para propiedades antioxidantes.

También las autoras Olga Lock y Rosario Rojas (2004) (19) mencionan en su trabajo de investigación que se han logrado aislar e identificar más de 50 compuestos de especies de *Piper aduncum* L., *P. angustifolium* y *P. elongatum*, especies del mismo género que *Piper peltatum*, entre los principales compuestos encontrados fueron fenilpropanoides, derivados de ácido benzoico y uno de los fenoles más conocidos los flavonoides (19).

Por otro lado la autora Gil Padilla (2019) (30), en su trabajo de investigación indica que la cantidad de polifenoles de un extracto metanólico obtenidos a partir de las hojas de *Piper aduncum* L. (*Matico*) es equivalente a 31.94 mg de catequina/1g de muestra seca, y en pruebas mediante la metodología de DPPH, resulto que el extracto metanólico de esta especie fue igual a una concentración de 66.03 ± 5.87 mM de trolox/1g de muestra seca; indicando que la planta una familia cercana a *Piper peltatum* presenta buen contenido de polifenoles y con ello una actividad antioxidante (30).

Algunas pruebas de forma in vitro también desarrolladas son de mucha importancia tanto para detectar la composición y la parte del efecto antioxidante como el autor Rojas Castillo y Rumay Risco (2010) (32) quienes prepararon soluciones de DPPH y usando técnicas de espectrofotometría cuyos máximos valores se alcanzaron a los 30 minutos a una concentración de 2,85 mg de extracto seco/10mL con un porcentaje de 49,48% en el caso de *Piper aduncum*, teniendo gran relevancia el efecto de antioxidante en este tipo de plantas (32). Así mismo existen algunas metodologías como da a conocer el autor Surco Laos (2020) (33) quien menciona que otra forma de obtener polifenoles en gran cantidad es haciendo uso de un baño ultrasonido con un sistema de solvente etanol, agua, ácido acético, el cual luego se lleva a sequedad en un evaporador rotatorio (33).

En nuestra Amazonía peruana el autor Alvarado Santillán (2019) recolectó la planta Matico a 3 altitudes diferentes y preparó 3 tipos de extractos uno acuoso, metanólico, y etanólico determinado así que a mayor altitud la especie vegetal posee mejor actividad antioxidante y que el mejor extracto de estudio fue el extracto acuoso.

2.4. Bases teórico científicas

2.4.1. Farmacobotánica

2.4.1.1. Familia Piperaceae y género Piper

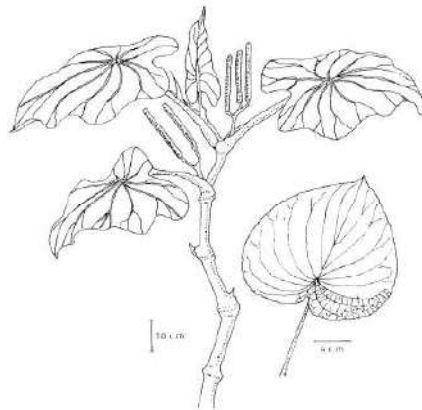
Es debido al número elevado de especies que forman parte de esta gran familia es que son causantes muchas controversias y es por ello que es considerada como una de las familia complejas, numerosas y diversas entre las angiospermas basales (34).

Dentro de los 14 géneros y aproximadamente 1950 especies están comprendidas plantas herbáceas, arbustivas, plantas trepadoras, y algunos árboles (35).

2.4.1.2. Descripción botánica

Piper peltatum L. “Santa María” es considerada una especie vegetal de crecimiento erguido con aproximadamente 2 m de altura, tiene unos tallos y pecíolos desprovisto de vellosidades, posee las hojas cordadas redondeadas peltadas de aproximadamente 16 x 18 cm; el tamaño de los pecíolos es de 9-20 cm aproximadamente, presenta las inflorescencias en forma de espiga umbelada de textura blanda, de 4 mm de grosor y de 5 -10 cm de largo (36).

Figura 1. *Piper peltatum* L. “Santa María”



Fuente: Mejía Carhuanca *et al.* (36)

2.3.1.3. Clasificación taxonómica de acuerdo al “HERVARIO VARGAS CUZ” (anexo N°5)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae

Género: Piper

Especie: *P. peltatum* L.

2.4.1.4. Hábitat

Está ubicado principalmente en ecosistemas donde predominan arbustos de tierras bajas húmedas o bosques húmedos, especialmente de regiones tropicales, aproximadamente desde 600 hasta los 1600 metros de altitud. Es nativa de

México, Centro América, las Antillas y Sudamérica (10). En el Perú es Común ubicarlos en bosques secundarios. Amazonas, Ayacucho, Cuzco, Huánuco, Junín, Loreto, Madre de Dios, San Martín, Ucayali (36).

2.4.1.5. Composición química

La familia Piperácea posee una gran variedad de componentes o denominados metabolitos secundarios y son reconocidos como buenas alternativas terapéuticas gracias a que estos componentes son responsables de los efectos beneficios para el tratamiento de muchas dolencias, esta extensa familia tienen como principal componente las amidas por ejemplo fenilpropanoides, lignanos y neolignanos, ácidos benzoicos y cromenos, alcaloides, policétidos y una plétora de compuestos de origen biosintético mixto (37).

El género Piperaceae contiene una gran cantidad de metabolitos secundarios por ejemplo del tipo flavonoide, propenilfenoles, amida, lignanos, kavapironas, neolignanos, taninos, saponinas, glúcidos, terpenoides, y otros compuestos fenólicos que están presentes principalmente en hojas, semillas y tallos, el género Piper es reconocido en el mundo de la medicina alternativa por sus propiedades farmacológicas (10). También Chavicina pariparobina, jaborandina, piperatina y peperina (36).

2.4.1.6. Nombres comunes de *Piper peltatum* L.

Feya, hoja Santa María, Piquina, Ugudi Bagasu, Cordoncillo, Corarnopan, Caapeba, entre otros (10).

2.4.1.7. Formas de uso “Santa María”

Piper peltatum L. es reconocida generalmente como “Santa María” o “Cordoncillo” es usada de diferentes maneras como por ejemplo de forma diurética, antipirética, antiinflamatoria, en la medicina, esta especie vegetal, *Piper peltatum* L. en los países Bolivia, Perú, Brasil es usada como parte de su medicina tradicional para tratar patologías hepáticas, inflamatorias e infecciosas (10).

Infusiones de raíz de *Piper peltatum* L. y *Piper umbellatum* L. sinónimo. *Pothomorphe peltata* (L.) y *Pothomorphe umbellata* (L.) se utilizan en medicina tradicional en la región amazónica y otras partes de América del Sur para el tratamiento de la malaria. Ambas especies son similares en términos de hábitat y ocurren en áreas húmedas, parcialmente sombreadas donde reciben

abundantes indirectas y algunas directas la luz del sol, como en los bordes de los bosques, senderos, bordes de caminos y típicamente donde la alteración antropogénica del bosque ha ocurrido. Ambas plantas son morfológicamente muy similares, siendo la diferencia más ostensible la posición de unión del pecíolo a la hoja, así como formas de hojas. En Brasil, estas especies también son conocido por los mismos nombres indígenas 'caapeba' y 'pariparoba' y los estudios químicos han demostraron que ambas plantas producen la secundaria metabolito 4-nerolidilcatecol (38).

Gracias a las dihidrohalconas presentes dentro de su composición química de las especies vegetales de esta gran familia es que se ha podido demostrar actividades antiparasitarias frente a especies de *Leishmania sp.* y *Plasmodium falciparum*. Por otra parte, las flavanonas han presentado actividad antifúngica y citotóxica. (39) Además se ha demostrado que las especies vegetales de este género puede estimular la linfa y, así mismo puede usarse para tratar afecciones en la piel (40).

A. Hojas:

- a) Para dolor y fiebres:** Se prepara un baño que consiste en poner a reposar las hojas de santa maría en el agua caliente y se espera que disminuya la temperatura con tal que sea tolerable por el paciente (36).
- b) Para cefaleas:** Se realiza una infusión de las hojas de santa maría dejándose reposar, agregar limón de ser necesario o de acuerdo al gusto (36).
- c) Para odontalgias:** Se hierve agua en un recipiente y se colocan las hojas de santa maría y se hierve, el líquido obtenido se ingiere, y las hojas cocidas se colocan en la parte del mentón, maxilar o en la zona comprometida por el dolor (36).
- d) Para expulsión de la placenta:** Se calientan las hojas a baño maría y se colocan sobre el cordón umbilical, esto ayudará a expulsar la placenta (36).

B. Raíz:

- a) Para vómitos y efecto diurético:** Se hace hervir la raíz y el líquido obtenido se bebe una taza por día (36).

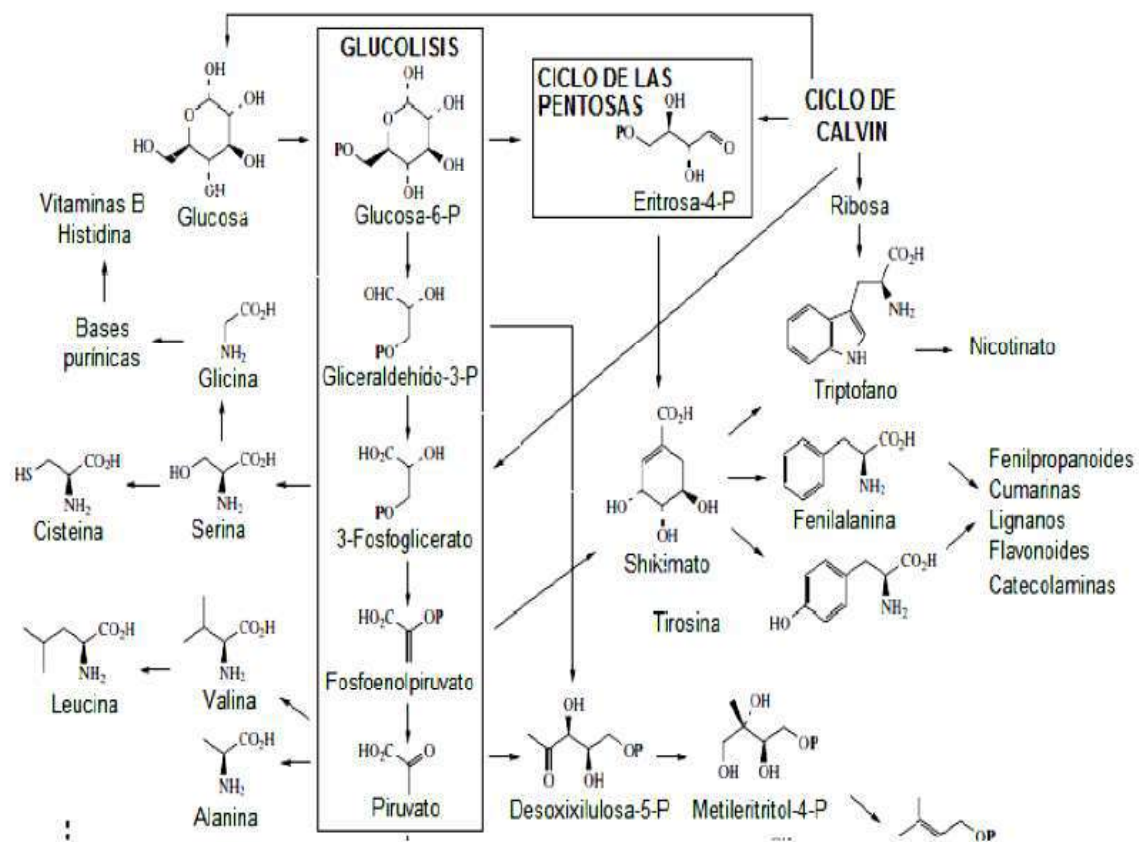
2.4.1.8. Lignanos y neolignanos

Dentro de los metabolitos secundarios representativos tenemos a los lignanos y neolignanos que son producto de la ruta biosintética del ácido shikímico además que está relacionado con la formación de lignina en las plantas, estos pueden ser extraídos de diferentes partes de la planta (18).

2.4.1.9. Flavonoides

Anteriormente se realizaron estudios e investigaciones científicas en diferentes especies vegetales pertenecientes a esta familia; de los cuales se han logrado aislar algunos de los muchos metabolitos secundarios presentes como, por ejemplo: amidas, lignanos, neolignanos, terpenos y flavonoides, siendo los de mayor abundancia las chalconas, dihidrochalconas, flavononas y algunas flavonas todas estas pertenecientes al grupo de los flavonoides (39).

Figura 2. Ruta biosintética de metabolitos secundarios lignanos y flavonoides



Fuente: Plazas Cuca *et al.* (39)

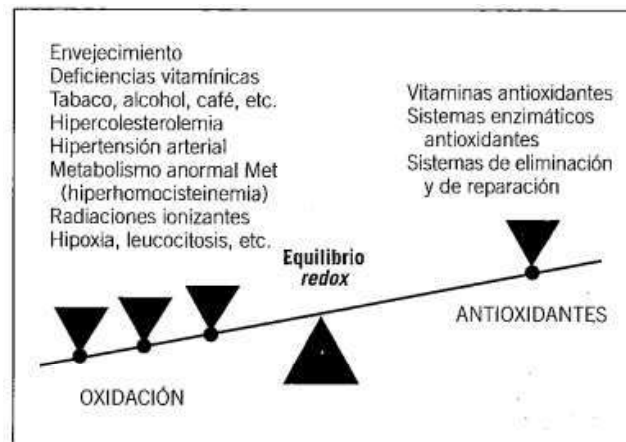
2.4.2. Efecto antioxidante

2.4.2.1. Estrés oxidativo en la salud humana

Los organismos aerobios usan el oxígeno como medio para obtención de energía, pero corren el riesgo de que sus defensas oxidantes se vean sobrepasadas por las fuerzas oxidantes a consecuencia de este evento y está relacionado con diferentes enfermedades así como también con el envejecimiento, son numerosas las enfermedades que se vieron relacionadas cuando los radicales libres aumentan por encima de los antioxidantes de origen endógeno tales como la arteriosclerosis, cáncer, Alzheimer, Diabetes Mellitus, enfermedades autoinmunes, **enfermedades inflamatorias crónicas** (41).

Se puede producir un daño celular irreversible cuando los radicales libres interactúan o reaccionan con las proteínas, lípidos y ácido desoxirribonucleico de las diferentes células, de esta manera se provoca daño en los tejidos y en el peor de los casos la muerte celular; cuando las condiciones de homeostasis no son normales es decir la producción de radicales libres y las concentraciones de antioxidantes ya sea provenientes de fuentes endógenas o exógenas se rompen este proceso es llamado estrés oxidativo (42).

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



Fuente: Garay Warthon *et al.* (29)

2.4.2.2. Especies oxidantes y radicales libres

Los radicales Libres (RL) son considerados moléculas en cuya estructura atómica y/o configuración electrónica posee un electrón desapareado en su último nivel de energía y como consecuencia posee una configuración

altamente inestable y reactiva (41) y mediante una rápida propagación puede causar un daño a más de 1 millón de moléculas mediante una serie de reacciones en cadenas, produciéndose de esta manera los llamados especies reactivas del oxígeno (ERO) O (ROS) reactive oxygen specie (4).

Los radicales libres al ser moléculas muy reactivos poseen un tiempo de vida media corta por lo que actúan en lugares muy cercanos a los sitios donde se formaron y son difíciles de dosificar, estas moléculas son producto de diferentes procesos celulares como por ejemplo cadena respiratoria llevado a cabo en las mitocondrias, cadena de transporte de electrones llevado a cabo en los microsomas y cloroplastos, y es de esta manera que se produce daño en las diferentes células (43).

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	$\text{ONOO}\cdot$
		Ácido peroxinitroso	ONOOH
		Alquil peroxinitritos	ROONO
		Ozono	O_3
		Ácido hipobromoso	HBrO

Fuente: García Alonso *et al.* (44)

2.4.2.3. Fuentes de radicales libres

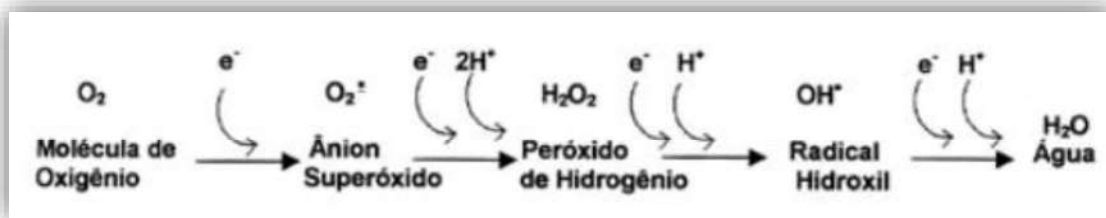
Como resultado de las reacciones redox en los que participan enzimas tales como NADPH+ (dinucleótido de adenina y nicotinamida fosfato), lipoxigenasa, ciclooxigenasa y peroxidasa pueden generar radicales libres siendo

consideradas como fuentes endógenas además de las reacciones de oxidación llevados a cabo en las microsomas, fagosomas, y finalmente la autooxidación de sustratos (42).

La fuente de producción de radicales libres no solo es endógena sino también se considera la radiación solar, toxinas fúngicas, pesticidas o plaguicidas, etc los cuales son denominados factores exógenos o fuentes exógena, estos también pueden incrementar las concentraciones de radicales libres (45).

Una de las funciones de las células de nuestro organismo consiste en metabolizar la mayor parte del oxígeno dando como resultado final agua, pero existe la posibilidad que en un pequeño porcentaje alrededor del 5% se forma tres intermediarios altamente tóxicos de los cuales dos son considerados de alta toxicidad (el anión superóxido y el hidroxilo) (45).

Figura 5. Esquema de producción de especies activas de oxígeno

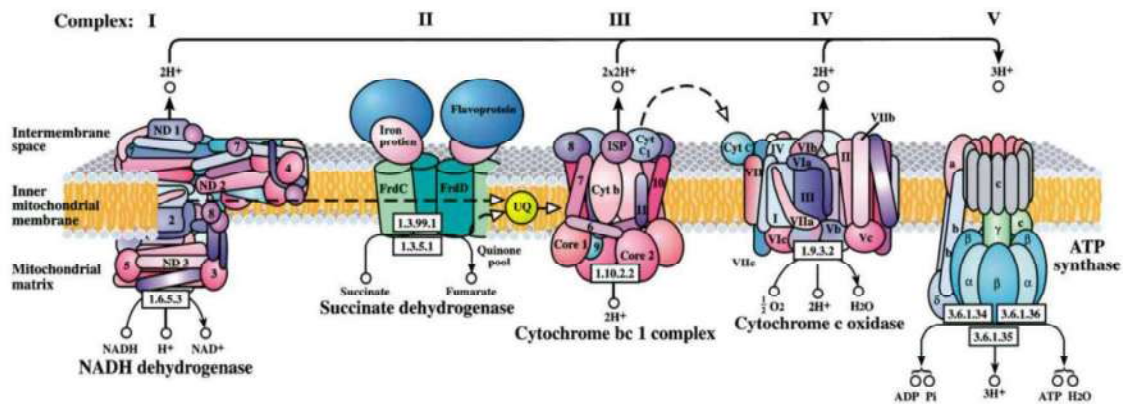


Fuente: Constanza Corrales *et al.* (46)

A. Fuente endógena de radicales libres.

- a. Mitocondrias:** Uno de los procesos más importantes se lleva a cabo en la mitocondria ya que es considerado el organelo de mayor importancia como fuente de producción de ATP y radicales libres, mediante el metabolismo oxidativo se lleva a cabo una reducción tetra electrónica del oxígeno consumiéndose aproximadamente el 95 – 98 % de este elemento, el restante aproximadamente 2 – 5 % tiene una reducción mono electrónica, formándose de esta manera intermediarios tóxicos como los radicales libres (46).

Figura 6. Formación de EROS vía complejos de cadena respiratoria



Fuente: Constanza Corrales *et al.* (46)

El presente gráfico representa la cadena de transporte de electrones en los mamíferos a través de los complejos (I-V), los electrones fluyen desde NADH o succinato al complejo I o II respectivamente, y secuencialmente hacia la ubiquinona (UQ), los electrones luego fluyen desde la ubiquinona a través de los complejos III y IV hacia el aceptor final que es la molécula de oxígeno, el flujo de electrones está acoplado al movimiento de protones a través de la membrana interna de los complejos I, III y IV, el gradiente de protones resultante es recolectado por el complejo V para generar ATP (47).

- b. Peroxisomas:** Los peroxisomas y los gliosomas son considerados los organelos encargados de llevar a cabo el ciclo del glioxilato, ya que poseen elevadas concentraciones de catalasa enzima que participa para conversión del peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno (46).
- c. Citocromo P450:** Es considerado uno de los principales lugares de producción de radicales libres está ubicado en el retículo endoplasmático cuya función es impulsar las reacciones que involucran al O₂, pero dichas reacciones son NADPH dependientes, el retículo endoplasmático cuenta con la presencia de iones de metales de transición, O₂, y además es un lugar donde se realizan transferencia de electrones, estas condiciones de este organelo contribuyen a la formación de radicales libres, por otro lado las enzimas presentes en este complejo son responsables del metabolismo oxidativo de los xenobióticos, sustratos de oxígeno, entre

los cuales de mayor relevancia son fármacos terapéuticos, productos químicos entre otros (46).

d. Fagocitosis: En el proceso de la fagocitosis se producen ERO (especies reactivas del oxígeno) beneficiosas para el organismo ya que este es el principal mecanismo de defensa contra los patógenos, gracias a que reciben señales de alerta a través de los mediadores proinflamatorios, o por la presencia de agentes extraños como bacterias, virus o parásitos, y como respuesta se da una “explosión” oxidativa en la que se produce gran cantidad de radicales $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot} y NO^{\cdot} para destruir las células infectadas (46).

e. Xantina Deshidrogenasa: Esta ubicada principalmente en endotelios y elimina las xantinas, pero al combinarse la actividad de esta con la enzima xantina oxidasa, se generan $O_2^{\cdot-}$ y H_2O_2 (46).

B. Fuente exógena de radicales libres: Los factores externos como exposición a rayos X, ozono, uso de tabaco frecuente, ambientes contaminados, restos químicos de industrias, e incluso algunos medicamentos contribuyen a la formación de radicales libres (46).

Tabla 1. Principales factores externos que incrementan la producción de EROs.

Contaminantes	Fibras de Asbesto Polvo de Minerales Ozono =O ₃ Monóxido de carbono =CO N ₂ O ₅ =pentóxido de di nitrógeno NO ₂ = dióxido de nitrógeno SiO ₂ =dióxido de silicio Solventes Toxinas Hipocloritos SO ₂ =Dióxido de Sulfuro Bifenilos Policlorados Paraquat y Diquat
Drogas	Acetaminofeno Ciprofloxacino Antidepresivos Tricíclicos Nitrofurantoinas Antidiabéticos Bleomicina Doxorrubicina
Iones Metálicos	Fe= Hierro Cu= Cobre Cd= Cadmio Ni= Níquel Cr=Cromo Hg= Mercurio
Radiaciones	Ultravioleta Rayos X Gamma
Dieta	Ácidos Grasos poliinsaturados Glucosa
Otros	Tabaco Ejercicios Intenso

Fuente: Constanza Corrales *et al.* (46)

2.4.2.4. Antioxidantes

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 (48).

Se tiene dos tipos de antioxidantes los naturales y sintéticos, los antioxidantes naturales provienen de fuentes naturales por ejemplo compuestos fenólicos los cuales comprenden, flavonoides, tocoferoles y ácidos fenólicos, y entre los compuestos nitrogenados están los alcaloides, procedentes de la clorofila, aminas y aminoácidos

o carotenoides, así como la vitamina C, (30) algunos de estos antioxidantes pueden ser protectores como el selenio, vitaminas C y E, β -caroteno, y varios compuestos polifenólicos (49), pero dentro de los antioxidantes sintéticos están las estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquílica (30),

A. Características de los Antioxidantes

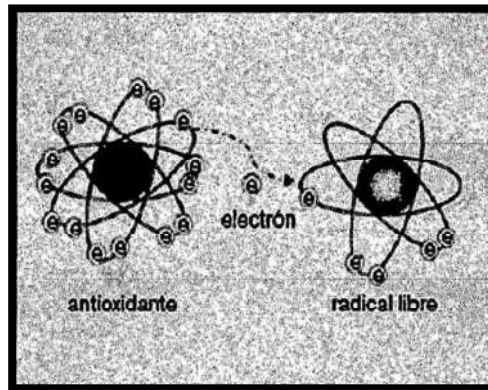
Dentro de algunas características de los antioxidantes es evitar o detectar la cadena de propagación oxidativa, estabilizando el radical producido, así como la regeneración del antioxidante ayudando a disminuir el deterioro oxidativo (50).

La célula al ser una estructura compleja, dentro de la membrana celular se encuentran lo que es la membrana lipídica, es decir, la mayor cantidad era grasa. (50) Gracias a la presencia de lípidos en las estructuras de las membranas el agua no puede moverse libremente de un compartimento a otro, así como las demás sustancias de naturaleza hidrosoluble (51). Por esto es que el antioxidante debe tener algunas cualidades de solubilidad diferente, dependiendo donde se efectuó su acción. Por ejemplo, la vitamina E es soluble en grasas y carotenoides mientras que otro puede ser soluble en agua, como lo es la vitamina C (50).

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 (50).

El mecanismo por el cual los antioxidantes defienden a nuestro organismo frente a radicales libres es entregando un electrón a estos últimos sin que se formen ellos mismo radicales libres (50).

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



Fuente: Juli Mamani *et al.* (50)

2.4.2.5. Sistema de defensa antioxidante

El cuerpo humano a desarrollado a través de su evolución diferentes mecanismos de defensa para evitar los radicales libres, es por medio de estos radicales que se intenta prevenir, retardar o detener la reacción de oxidación en cadena a consecuencia de un radical libre además de reparar los efectos y daños que causan a las macromoléculas o finalmente eliminar las dañadas, es por ellos que se puede dividir de dos formas un sistema de defensa enzimático considerado como la primera línea de defensa y evita la acumulación de ERO y no enzimático que ayuda en la formación de moléculas menos nocivas (46).

Este último es considerado la segunda barrera de defensa y actúan dentro y fuera de la célula (50).

De preferencia se debe ingerir antioxidantes solubles en agua y grasa, ya que, si por ejemplo solo se consume las solubles en agua como el retinol o ácido ascórbico, provenientes de una gran variedad de frutas, e inclusive con estas cantidades consumidas nuestro organismo sigue siendo vulnerable frente a los radicales libres (30).

A. Sistema de defensa enzimático o antioxidantes primarios

- a. **Superóxido dismutasa (SOD):** Esta enzima favorece la dismutación de los radicales libres $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 , dando como resultado componentes menos reactivos y que incluso pueden llegar a ser eliminados por otras enzimas como la catalasa o el glutatión peroxidasa (46).
- b. **Glutatión peroxidasa:** Un tripéptido con un gran potencial antioxidante y propiedades termorreguladoras, se encuentra exclusivamente como glutatión reductasa, la función de esta enzima es realizar la conversión de peróxido en agua. Esta enzima ha atraído la atención para el desarrollo de compuestos químicos miméticos de “secuestradores” de radicales libres como agentes terapéuticos en padecimientos neurodegenerativos, cardiovasculares e inflamatorios (52) (46).
- c. **Catalasa:** Es una enzima metaloproteína que posee un grupo prostético hemo, está presente en organismos vivos (46), gracias a su función es considerada la enzima más eficiente en la eliminación de peróxido de hidrogeno (53). Presenta 2 funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno (43).

Tabla 2. Antioxidantes enzimáticos.

Antioxidante	Ubicación Celular	Función Fisiológica
Superóxido dismutasa	Citoplasma (SOD-1) Mitocondria (SOD-2) Extracelular (SOD-3)	Participan en las reacciones de oxidación y reducción de radicales superóxido.
Glutatión peroxidasa	Citoplasma y mitocondria	Aísla el H_2O_2 y los peroxoles orgánicos para luego ser eliminados
Catalasa	Citoplasma y mitocondria	Aísla el H_2O_2 para luego ser eliminados

Fuente: Constanza Corrales *et al.* (46)

B. Sistema de defensa no enzimático o antioxidantes secundarios.

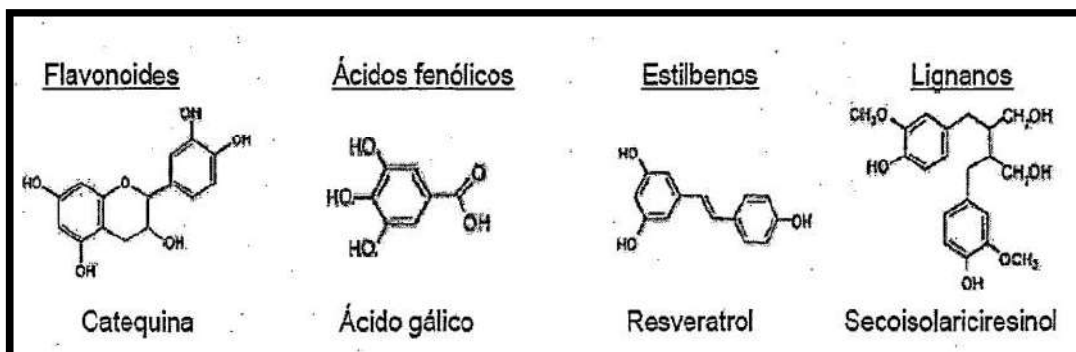
Esta segunda defensa puede ser de tipo exógeno proveniente de la dieta diaria que son los antioxidantes de origen natural o procedentes de la dieta en los alimentos de consumo cotidiano y que puede contrarrestar las especies reactivas sobre las funciones fisiológicas (4), Vitamina C, vitamina E, carotenoides y Se, son considerados antioxidantes provenientes del consumo de los alimentos, pero existen antioxidantes de origen natural tales como los polifenoles (50).

Los antioxidantes secundarios ayudan a desactivar los metales pesados, inhiben los dihidroperóxidos lipídicos, además que pueden regenerar antioxidantes primarios, eliminar el oxígeno singulete, etc (50).

Dentro de este grupo podemos encontrar:

- ✓ **Vitamina C:** Para que nuestras células puedan disminuir los daños de los radicales libres, así como mejorar la absorción del hierro, es preciso la presencia de la vitamina C, si en caso hubiera una deficiencia de esta vitamina los procesos de cicatrización, curación de heridas se llevaría a cabo de manera muy lenta y así mismo no podría prevenirse el escorbuto (30).
- ✓ **Vitamina E:** Nuestro organismo especialmente nuestros tejidos están siendo atacados de manera constante por los radicales libres es por ellos que la presencia de la vitamina E puede combatir estos procesos reduciendo los daños (54).

Figura 8. Tipos y estructuras químicas de algunos polifenoles.



Fuente: Juli Mamani *et al.* (50)

Tabla 3. Antioxidantes no enzimáticos.

Antioxidante	Función Fisiológica
Tocoferol o Vit. E	Principal antioxidante no enzimático y presente en alimentos cuya función es captar los radicales libres y de esta manera evitar la oxidación de los lípidos de las membranas celulares.
Ácido ascórbico	Tiende a eliminar los radicales y reciclar la vit E o tocoferol ya que estas dos vitaminas actúan como grandes antioxidantes.
Glutación	Es uno de los antioxidantes celulares más importantes.
Ácido lipoico	Inhibe los radicales libres eficazmente además cumple también la función del glutación.
Carotenoides	Es un buen antioxidante de los lípidos
Ubiquinonas CoQ10	Posee una alta función como antioxidante.

Fuente: Constanza Corrales *et al.* (46)

2.4.3. Antioxidantes de origen vegetal

2.4.3.1. Polifenoles

Entre los antioxidantes también podemos encontrar algunos principios activos como los polifenoles (4). Los polifenoles son considerados moléculas de estructura herterogénea ya que poseen como parte de su estructura grupos bencénicos reemplazados por funciones hidroxílicas (30), tienen la capacidad de eliminar los radicales libres, así como la capacidad de ser usados en inmunoterapia (55). Se les puede dar algunos usos ya que son vasos protectores, previenen la formación de trombos en la sangre, y también anti escleróticos (4).

Los flavonoides, los compuestos fenólicos o poli fenólicos presentan actividades antioxidantes y capturan los radicales libres, estos son llamados también metabolitos secundarios de las plantas (50).

2.4.3.2. Mecanismo de acción de antioxidantes polifenoles

a) Acción cardiosaludable: Los polifenoles tienen mayor capacidad protectora que el alfa tocoferol cuando se trata de inhibir y bloquear la oxidación de las LDL. En presencia de Cu^{++} (30).

También pueden disminuir in vivo la actividad de la HMG-CoA reductasa. Se han demostrado estudios que demuestran actividad protectora del hidroxitirosolesol en personas consumidoras crónicas de tabaco (56).

b) Acción neuro protectora: Los polifenoles tienen la capacidad de salvaguardar las células del sistema nervioso cuando estas son expuestas

a un estrés oxidativo como por ejemplo la proteína beta-amiloide causando un efecto toxico sobre las neuronas (55).

Además, los polifenoles poseen una actividad protectora sobre las neuronas dopaminérgicas especialmente en vías que conducen a la formación mediadores de la inflamación y apoptosis celular (55)

c) Acción antiinflamatoria: Poseen la capacidad antiinflamatoria a través de la inhibición de las enzimas ciclooxigenasa (COX-2) y lipooxigenasa, ambas enzimas implicadas en la cascada inflamatoria del ácido araquidónico. Se le confiere algunos efectos antiinflamatorios previniendo trastornos funcionales urológicos y de próstata (56).

d) Acción antialérgica: Los polifenoles participan en la prevención, manejo, reducción de alergias, inflamaciones cutáneas, signos y síntomas como prurito, alergias respiratorias todo ello gracias a la inhibición de respuesta Th2 (56).

2.4.3.3. Clasificación de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se pueden catalogar en 4 grupos esto dependiendo de la cantidad de anillos fenólicos tenemos los flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos; en sus diferentes estructuras poseen unión con frecuencia a glucosa, galactosa, arabinosa, xilosa y ácido glucorónico, es por ello que de acuerdo a su naturaleza estos compuestos pueden poseer estructuras simples hasta estructuras complejas o polimerizadas (50).

2.4.3.4. Actividad biológica de los compuestos polifenólicos

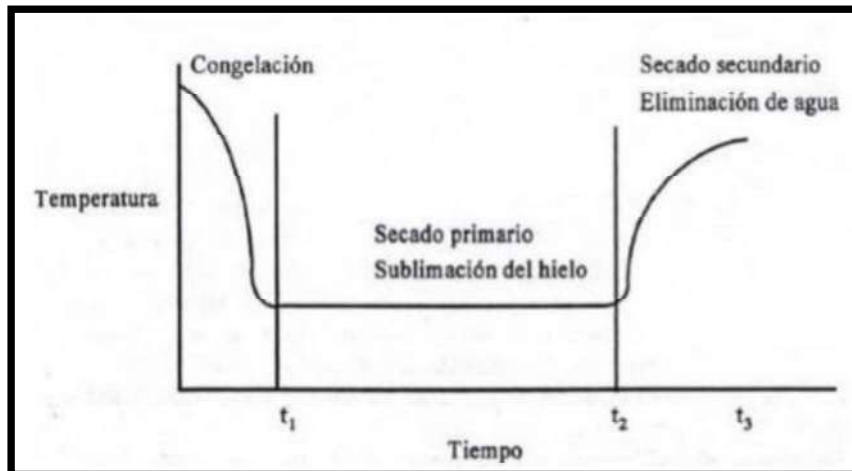
Los compuestos poli fenólicos aportan muchos beneficios a la salud gracias a su alta capacidad antioxidante; así mismo estos compuestos pueden prevenir enfermedades a nivel del corazón ya que consiguen reducir las concentraciones y niveles de triglicéridos, colesterol, LDL-colesterol en la sangre, e impiden la agregación de plaquetas; por otro lado en estudios demostrados en roedores que el uso de extractos de estas especies poseen quimio protectores y una alta actividad antiinflamatoria (57).

2.4.4. Liofilización, método de determinación de la actividad antioxidante, cuantificación de polifenoles totales y cuantificación de flavonoides mediante HPLC.

2.4.4.1. Liofilización

Como uno de los procesos de secado y que vamos aplicar el en presente trabajo tenemos la liofilización que es un proceso que consiste en retirar o eliminar casi la totalidad del agua a partir del proceso de congelación en lugar de aplicar calor, la liofilización garantiza que la muestra vegetal tenga la ausencia de microorganismos patógenos que podrían deteriorarla, además de que conserva las estructuras físico químicas (58).

Figura 9. Etapas del secado por liofilización.



Fuente: Romero Cunias. (59)

A. Etapas de la liofilización:

- a. **Congelación:** Es el acondicionamiento a bajas temperaturas (59).
- b. **Secado por sublimación:** Se lleva a cabo a muy bajas presiones y se lleva en dos etapas (59).
 - **Secado Primario por sublimación de hielo:** Para ello se requiere elevada cantidad de energía que suministrada en alto vacío puesto que la interfase de secado se transporta hacia el interior de la muestra (59).
 - **Secado Secundario:** El producto después de haber sido liofilizado mantiene un porcentaje de humedad mínimo el cual es absorbido por el material o se adsorbe a la superficie del mismo (59).
- c. **Almacenamiento:** Se lleva a cabo a condiciones controladas (59).

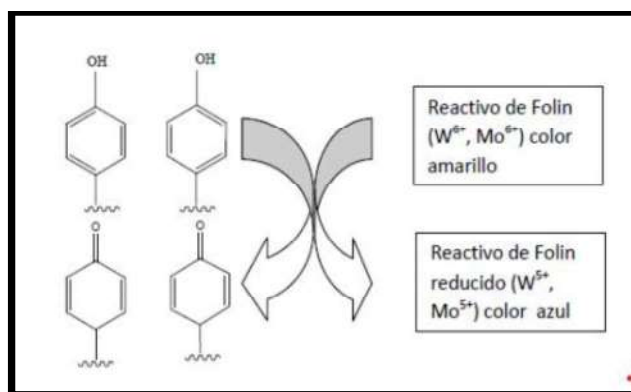
2.4.4.2. Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil)

El DPPH[•] es un radical libre constante que puede conseguirse directamente sin una preparación previa, además de ser muy estable en un medio orgánico. (50) La molécula de DPPH en disolución metabólica muestra un color violeta intenso con una fuerte absorción a 515 nm y cuando se combina con una sustancia que puede conceder un átomo de hidrógeno (antioxidante), reduce al DPPH[•] dando como resultado el viraje del color violeta a un color amarillo pálido, el cual es dependiente de la cantidad de electrones que serán capturados. (60) Este método consiste en capturar radicales libres, para ello se requiere la presencia de una sustancia antioxidante y como resultado se va midiendo la inactivación de este radical DPPH en un medio acuoso (30).

2.4.4.3. Método de Folin- Ciocalteu

El método de **Folin Ciocalteu** que consiste en una composición de ácido fosfotúngstico y fosfomolibdico (color amarillo) (60), este método consiste en que los polifenoles al entrar en contacto con el reactivo de Folin-Ciocalteu, en medio de un pH básico, da como resultado un color azul el cual es susceptible a ser determinada por espectrofotometría a una medida de onda de 765 nm (61). El viraje de color es por reducción, originada por los fenoles que tienden a reducir el reactivo de Folin-Ciocalteu (62).

Figura 10. Reacción química del reactivo folin ciocalteu con cambio de coloración.



Fuente: García Martínez *et al.* (61)

2.4.4.4. Cromatografía líquida de alta resolución HPLC

La cromatografía líquida es una técnica cromatográfica usada desde hace tiempo. En un principio, el análisis se llevaba a cabo en presión ambiente, con lo cual el flujo del solvente y la separación de los compuestos era muy lento (0.001 a 0.01 cm/s). Como las demás técnicas de cromatografía, las separaciones por HPLC se basan en la distinta

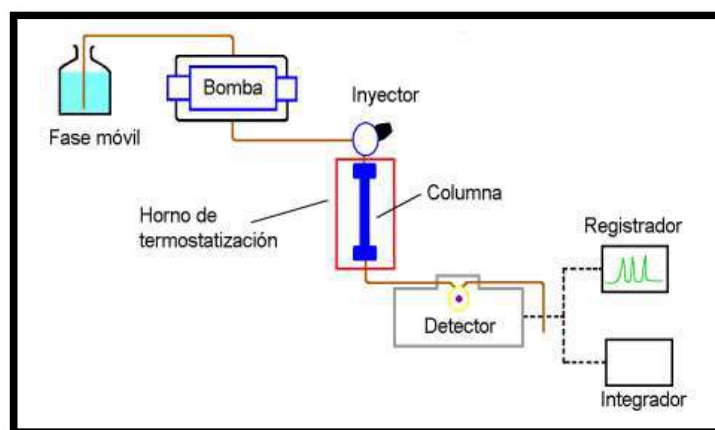
distribución de los compuestos entre una fase estacionaria (partículas sólidas que recubren la parte interna de la columna) y lo que respecta a la fase móvil (fase líquida constituida por uno o más solventes) según la afinidad que vayan a tener por estas (63).

La cromatografía de líquidos es el método de separación analítica es la técnica más común y más usada. Su uso está más reconocido por su alta sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para automatizarla y su capacidad para separar especies no volátiles o termolábiles (64).

Ahora la técnica del HPLC es muy común en el análisis de flavonoides, y para su aplicación correcta deben tenerse en cuenta tres parámetros fundamentales como pueden ser: Las características de la fase móvil, la parte estacionaria y del tipo de detección (63).

Dentro de la forma de función del equipo ésta que un líquido (fase móvil) circula en íntimo contacto con un sólido u otro líquido inmisible (fase estacionaria); al introducir una mezcla de sustancias que en este caso será los analitos en la corriente de fase móvil, cada analito avanzará a lo largo del sistema con una velocidad diferente que dependerá de su afinidad por cada una de las fases. Esto quiere decir que después de terminado el recorrido de la muestra por la columna, cada una de las sustancias introducidas en el sistema eluirá con un tiempo diferente, es decir, indicando que estarán separadas (65).

Figura 11. Esquema de equipo de HPLC (bomba, inyector, columna, detector y sistema de recogida de datos)



Fuente: Chavez. (65)

2.5. Glosario de términos:

- a. **EROs:** Especies reactivas del oxígeno son compuestos que se producen principalmente en la mitocondria durante los procesos del metabolismo por medio de reacciones de óxido reducción que ocurren en los complejos de transferencia de electrones y que tienen al oxígeno como último aceptor de electrones (66).
- b. **Radical Libre:** Son átomos o grupos de átomos que poseen un electrón desapareado o libre porque son muy reactivos, puesto que tienden a captar un electrón de moléculas estables con objetivo de alcanzar la estabilidad electroquímica (45).
- c. **Polifenoles:** Son metabolitos secundarios de las plantas que poseen diferentes funciones fisiológicas, son moléculas naturales que derivan de las vías de shiquimato y de los fenilpropanoides (67).
- d. **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 (48).
- e. **Inflamación:** Es una reacción de defensa frente a cualquier agresión mediante un mecanismo de homeostasis, siendo un proceso complejo que se presenta frente respuesta tanto a infecciones o diversos estímulos generadores de lesión tisular (68).
- f. **Catalasa:** Es una de las enzimas más abundantes, localizadas en la mitocondria y los peroxisomas, según su estructura es una metaloproteína tetramérica, como parte del sistema antioxidante participa en la destrucción de peróxido de hidrogeno generado durante el metabolismo celular (49).
- g. **Flavonoides:** Están considerados dentro del grupo de los polifenoles en su estructura provienen de aminoácidos aromáticos, fenilalanina y tirosina, los flavonoides son considerados necesarios para el normal desarrollo de la planta puesto que tienen funciones como señaladores químicos o incluso actúan en procesos metabólicos (67).
- h. **Histamina:** Es considerado un mediador químico que participa en procesos fisiológicos de la célula, así como en respuestas patológicas de tejidos; como parte de su función esta actuar en procesos de inflamación, procesos alérgicos, y entre otros (69).

- i. Prostaglandinas:** Son considerados hormonas locales debido a que se producen y actúan en las áreas afectadas, poseen vida media corta puesto que se producen cuando el cuerpo lo requiere y no se almacena en tejidos (70).
- j. 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 (70).
- k. Estrés oxidativo:** Es un proceso bioquímico de pérdida de electrones, pero cuando la oxidación es excesiva se presenta el estrés oxidativo (48).
- l. Liofilización:** es un proceso que consiste en retirar o eliminar casi la totalidad del agua a partir del proceso de congelación en lugar de aplicar calor, la liofilización garantiza que la muestra vegetal tenga la ausencia de microorganismos patógenos que podrían deteriorarla, además de que conserva las estructuras físico químicas (58).
- m.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 (50).
- n. Extracto:** Es la proporción entre la cantidad de muestra botánica con metabolitos secundarios (solute) y la cantidad de etanol de 70° y/ agua (disolvente) (71).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Material botánico

Especie Vegetal del género Piper de nombre común “Santa María” perteneciente a la comunidad nativa “Santa Rosa de Huacaria”.

3.1.2. Materiales de campo

- ✓ Papel Craft
- ✓ Papel Periódico
- ✓ Cuaderno de campo
- ✓ Engrampador
- ✓ Tijera Botánica
- ✓ 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
- ✓ Programa windows office
- ✓ Cámara de celular
- ✓ Impresora
- ✓ Papel bond
- ✓ Cuaderno de apuntes

3.1.4. Materiales de laboratorio

Tabla 4. Método, reactivos e instrumentos y/o equipos usados durante la investigación.

Pruebas	Reactivos y/o Soluciones Químicas	Instrumentos y/o Equipos
Determinación del Porcentaje de Humedad	-----	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Crisoles de porcelana ✓ Balanza Analítica Mettler Toledo ✓ Estufa BioBase BOV- V ✓ Desecador
Preparación del Extracto Etanólico	Alcohol 70°	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Envase de vidrio color Âmbar ✓ Mortero ✓ Papel Aluminio ✓ Embudo ✓ Papel Filtro ✓ Pipetas ✓ Balanza Analítica Mettler Toledo ✓ Rotavapor Buchi R215 ✓ Congelador Shin BioBaseCo DF-8520S
Liofilización de Hojas y Tallos	-----	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Liofilizador Liotop L101 ✓ Envases de Vidrio
Análisis Fitoquímico	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Etanol ✓ Ácido Clorhídrico ✓ Reactivo Dragendorff ✓ Reactivo de Baljet ✓ Hidróxido de sodio al 5% ✓ Cloroformo ✓ Ácido Sulfúrico ✓ anhídrido acético ✓ Carbonato de Sódio ✓ Reactivo de Fehling ✓ Tricloruro férrico al 5% 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Tubos de Ensayo ✓ Pinzas para tubos de ensayo ✓ Pipetas de 10ml, 5ml, 1ml ✓ Gradillas ✓ Mecheros ✓ Pissetas ✓ Frascos Âmbar

	✓ Acetato de sodio	
Cuantificación de Polifenoles (Método de Folin-Ciocalteu)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Reactivo de Folin Ciocalteu ✓ Patrón de ácido gálico ✓ Carbonato de Sodio 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Micropipeta de 100 µL y 1000 µL Picus LH-745021 ✓ Fiola de 25 mL y 100 mL ✓ Vaso Precipitado ✓ Tubos de Ensayo ✓ Punteras de 200 y 1000ul ✓ Papel Aluminio ✓ Espectrofotómetro Evolution V-700 ✓ Balanza Analítica Mettler Toledo ✓ Vortex Mixer VM-300
Actividad Antioxidante (Método de DPPH)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Reactivo DPPH ✓ Solución Patrón de Trolox ✓ Metanol 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Micropipeta 100 µL ✓ Gradilla ✓ Tubos de Ensayo ✓ Pipetas de 5ml ✓ Espectrofotómetro Evolution V-700 ✓ Balanza Analítica Mettler Toledo ✓ Vortex Mixer VM-300
Cuantificación de Flavonoides mediante HPLC	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Metanol grado HPLC ✓ Acetonitrilo ✓ Patrón de Quercetina ✓ Patrón de Rutina 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Micropipeta 100 µL ✓ Gradilla ✓ Tubos de Ensayo ✓ Equipo de HPLC ✓ Balanza Analítica Mettler Toledo ✓ Vortex Mixer VM-300

Fuente: *Elaboración Propia*

3.2. Diseño metodológico

3.2.1. Tipo de estudio

El tipo de estudio es correlacional, se establece la relación que existió entre dos variables: Independiente la concentración de los extractos alcohólicos al 70% obtenido a partir de hojas y tallos de la especie vegetal *Piper peltatum* L. "Santa María", y tres variables dependientes cuantificación de polifenoles totales, determinación de la actividad antioxidante e identificación y cuantificación de flavonoides mediante HPLC, descriptivo por que se identificaron y cuantificaron polifenoles presentes en la planta.

3.2.2. Diseño de la investigación

Se planteó un diseño cuasiexperimental porque se manipuló la variable independiente (concentración de los extractos) para observar los resultados en las variables dependientes.

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

Tabla 5. Diseño cuasiexperimental para la actividad antioxidante por el método DPPH.

Grupo	Tratamiento cuasiexperimental	Medición de la absorbancia
G 1-e	X 1-e	O 1-e
G 2-e	X 2-e	O 2-e
G 3-e	X 3-e	O 3-e
G 4-l	X 4-l	O 4-l
G 5-l	X 5-l	O 5-l
G 6-l	X 6-l	O 6-l
G-c	X -c	O-c
G-b	-----	O-b

Fuente: Elaboración Propia

Donde:

- G1-e,.....G-b: Tubos de ensayo con reactivo DPPH.
- X-c: Patrón trolox
- X1-e, X2-e, X3-e: Muestras de extracto etanólico al 70% (calor seco)
- X1-l, X2-l, X3-l: Muestras de extracto etanólico al 70% (liofilizado)
- ---: Ausencia de tratamiento
- O 1-e ... O-b: Medición de la absorbancia

3.2.2.2. Para el ensayo de cuantificación de polifenoles totales

Tabla 6. Diseño cuasiexperimental para la cuantificación de polifenoles totales por método folin-ciocalteu.

Grupo	Tratamiento cuasiexperimental	Medición de la absorbancia
G 1-e	X 1-e	O 1-e
G 2-e	X 2-e	O 2-e
G 3-e	X 3-e	O 3-e
G 4-l	X 4-l	O 4-l
G 5-l	X 5-l	O 5-l
G 6-l	X 6-l	O 6-l
G-c	X-c	O-c
G-b	-----	O-b

Fuente: Elaboración Propia

Donde:

- G1-e,.....G-b: Tubos de ensayo con reactivo Folin-Ciocalteu.
- X-c: Patrón Ácido Gálico
- X1-e, X2-e, X3-e: Muestras de extracto etanólico al 70% (calor seco)
- X1-l, X2-l, X3-l: Muestras de extracto etanólico al 70% (liofilizado)
- -: Ausencia de tratamiento
- O 1-e ... O-b: Medición de la absorbancia

3.2.2.2. Para el Ensayo de cuantificación de flavonoides

Tabla 7. Diseño cuasiexperimental para la cuantificación de Flavonoides por HPLC.

Grupo	Tratamiento cuasiexperimental	Medición de la absorbancia
G 1-e	X 1-e	O 1-e
G 2-e	X 2-e	O 2-e
G 3-e	X 3-e	O 3-e
G 4-l	X 4-l	O 4-l
G 5-l	X 5-l	O 5-l
G 6-l	X 6-l	O 6-l
G-c	X-c	O-c
G-b	-----	O-b

Fuente: Elaboración Propia

Donde:

- G1-e,.....G-b: Tubos de ensayo con acetonitrilo.
- X-c: Patrón Quercetina
- X1-e, X2-e, X3-e: Muestras con extracto etanólico al 70% (calor seco)
- X1-l, X2-l, X3-l: Muestras con extracto etanólico al 70% (liofilizado)
- ---: Ausencia de tratamiento
- O 1-e ... O-b: Medición en HPLC

3.3. Variables implicadas

3.3.1 Variable Independiente

3.3.1.1 Extractos etanólicos al 70% de *Piper peltatum* L. “Santa maria”

a) **Definición conceptual:** Proporción cantidad de muestra botánica con metabolitos secundarios (soluto) y la cantidad de etanol de 70° (disolvente) (71).

b) **Definición operacional:**

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Tipo de medición :** Directa
- **Unidad de medida:** mL
- **Indicador:** Cantidad del disolvente
- **Escala de medición:** De razón
- **Instrumento de medición:** Probeta, Pipetas
- **Método:** Calor seco y Liofilización
- **Procedimiento:** Se procedió a pesar la cantidad necesaria en mg y/o gr, se disolvió en mL de disolvente y se utilizó para la actividad antioxidante y la cuantificación de polifenoles totales.

3.3.2 Variable Dependiente

3.3.2.1. Cuantificación de polifenoles totales

a) **Definición conceptual:** Consiste en un proceso mediante una técnica espectrofotométrica y mediciones mediante absorbancias el cual constata la cantidad de metabolitos secundarios (polifenoles) en un extracto hidroalcohólico (72).

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:** Luego de homogenizar y esperar 12 h se midió la absorbancia de las diferentes soluciones preparadas a 510 nm

tanto del extracto como de la solución estándar

- **Expresión final de la variable:** [] de flavonoides en unidades de medida mgQE/g.

3.3.2.2. Actividad antioxidante de los extractos etanólicos al 70% secados mediante dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L.

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 indicaría la eficacia captadora del extracto (72).

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:** En primer lugar, se procedió a realizar una preparación del reactivo DPPH en el solvente metanol, en un tubo de ensayo se colocó el reactivo DPPH y se añadió solución patrón de trolox para la curva patrón y en otros tubos de ensayo se colocaron el extracto seco de la muestra disuelta en metanol, se dejó reposar en la oscuridad por 1 hora y posterior a la hora transcurrida se procedió medir la absorbancia a 515nm.
- **Expresión final de la variable:** % de captación de radicales libres, IC₅₀, TEAC.

3.3.2.3. Cuantificación de flavonoides mediante HPLC.

a) Definición conceptual: HPLC consiste en una técnica analítica utilizada para separar, identificar y cuantificar componentes en una mezcla, se realizó la cuantificación de flavonoides mediante el procedimiento del estándar externo que sirvió como marcador de diferenciación en los contenidos de los flavonoides y se usó una columna C18, el mecanismo de acción que rige la separación de los flavonoides del extracto se debe al carácter hidrofóbico que presentan las estructuras de los flavonoides y a la cadena carbonada (octadecilsilano) de la columna, es decir, como los flavonoides presentan en su estructura una parte apolar significativa, la interacción con la parte apolar de la columna C18, esta técnica generalmente requiere patrones para asegurar la precisión y la exactitud de los resultados (73) (74).

b) Definición operacional:

- **Naturaleza:** Cuantitativo
- **Tipo de medición:** indirecta
- **Escala de medición :** Directa - razón
- **Instrumento de medición:** Cromatografía Líquida de alta eficiencia.
- **Método:** HPLC
- **Procedimiento:** Se procedió a la cuantificación de flavonoides mediante HPLC usando las muestras y un estándar secundario para realizar la comparación.
- **Expresión final de la variable:** mg/mL

3.4. Variables no implicadas

- **De la especie vegetal *Piper peltatum* L. en estudio:**

Se tomará en cuenta:

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

Tabla 8. Operacionalización de variables

		VARIABLES IMPLICADAS	
INDEPENDIENTE		DEPENDIENTES	
Definición conceptual	Extractos etanólicos al 70% de <i>Piper peltatum</i> L. "Santa Maria"	Cuantificación de polifenoles totales	Cuantificación de Flavonoides Mediante HPLC.
	Proporción cantidad de muestra botánica con metabolitos secundarios (soluto) y la cantidad de etanol de 70° (disolvente) (71).	Consiste en un proceso mediante una técnica espectrofotométrica y mediciones mediante absorbancias el cual constata la cantidad de metabolitos secundarios (polifenoles) en un extracto hidroalcohólico. (72).	HPLC consiste en una técnica analítica utilizada para separar, identificar y cuantificar componentes en una mezcla, se realizó la cuantificación de flavonoides mediante el procedimiento del estándar externo que sirvió como marcador de diferenciación en los contenidos de los flavonoides y se usó una columna C18, el mecanismo de acción que rige la separación de los flavonoides del extracto se debe al carácter hidrofóbico que presentan las estructuras de los flavonoides y a la cadena carbonada (octadecilsilano) de la columna, es decir, como los flavonoides presentan en su estructura una parte apolar significativa, la interacción con la parte apolar de la columna C18, esta técnica generalmente requiere patrones para asegurar la precisión y la exactitud de los resultados (73) (74).
Naturaleza	Cuantitativa	Cuantitativa	Cuantitativa
Tipo de medición	Directa	Indirecta	Indirecta
Escala de medición	Razón	Razón	Razón
Instrumento de medición	Probeta, Balanza Analítica	Espectrofotómetro	Cromatografía Líquida de alta eficiencia.
Método	Secado en calor seco y Liofilizado	Folin Ciocalteu	HPLC
Expresión final	mg/mL de extracto alcohólico / gr de muestra pulverizada	[] de flavonoides en unidades de medida mgQE/g	mg/mL
VARIABLES NO IMPLICADAS			
De la planta	Estadio de crecimiento, lugar de recolección, temporada de recolección.		

3.5. Procedimiento de la investigación

3.5.1. Recolección de la planta en la comunidad nativa Santa Rosa de Huacaria.

- Para realizar la recolección de la planta primeramente se consultó con el maestro y agente de la medicina tradicional en el Centro de Sanación Masunawa Sr. Alberto Manqueriapa, quien es representante de la comunidad nativa Santa Rosa de Huacaria ubicada a 650 m.s.n.m (VER ANEXO 11) sobre el tiempo y estadio de crecimiento de la planta, en que temporada había mayor cantidad y si ya estaba floreciendo la planta y de qué manera se podría hacer la recolección de las hojas sin dañar el tallo principal.
- Habiendo tenido todas esas respuestas procedimos a viajar en el mes de junio del año 2022 para hacer la recolección en donde la planta tenía buen brote, y el corte para sacar las hojas debía ser delicado con unas tijeras de jardinería.

3.5.2. Preparación del extracto etanólico al 70 % de las hojas y tallos de *Piper peltatum* L. secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) (75).

- Se procedió a realizar el secado en calor seco (estufa) a una temperatura aproximada de 38 °C y paralelamente el secado en el liofilizador a una temperatura de -43 ± 1 °C y a una presión de 62 ± 5 mmHg por un período de 12 horas para finalmente obtener el pulverizado de material vegetal de ambas formas de secado.
- Las muestras molidas se tamizaron en un tamiz N°200 para obtener partículas homogéneas en ambos casos.
- Luego se pesó 100 g de muestra pulverizada de ambas formas de secado y se colocó en un frasco color ámbar, luego se añadió el solvente (etanol al 70%) en cantidad suficiente para cubrir totalmente la muestra, siendo este aproximadamente 500 mL.
- Se dejó macerar por 8 días en el caso de extracto etanólico.
- Finalmente habiendo pasado el tiempo proyectado se procedió a filtrar, y almacenar los extractos en frascos color ámbar.
- Los dos extractos provenientes de ambas formas de secado (calor seco y liofilizado) se llevó a sequedad a una temperatura de 37 - 40 °C,

los extractos secos obtenidos se almacenaron en recipientes herméticos a una temperatura de 4 °C hasta realizar las pruebas posteriores correspondientes.

3.5.3. Porcentaje de humedad de hojas y tallos de *Piper peltatum* L. (75)

- Se pesó 5 g de la muestra vegetal fresca de las hojas y se depositó en una placa Petri por triplicado.
- Luego se colocó las placas Petri en una estufa que estuvo graduada a una temperatura de 105 °C durante 4 h.
- Posteriormente habiéndose obtenidos pesos constantes se procedió a realizar el cálculo, 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.

3.5.4. Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de *Piper peltatum* L. (75)

- Se filtró los extractos hidroalcohólicos con embudos en frascos color ámbar.
- El resto sólido junto con el papel filtro se colocó en una placa Petri para finalmente ser colocado en la estufa a una temperatura de 35-40 °C durante 24 h.
- Finalmente, el porcentaje de rendimiento se halló con 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.

3.5.5. Solubilidad de hojas y tallos de *Piper peltatum* L. (75)

- En diferentes placas Petri pequeños se procedió a colocar 5 ml del extracto de la planta el cual llevó a sequedad y al extracto seco obtenido, se añadió 1mL de (Agua destilada, Metanol, etanol al 40%, etanol al 70 %, etanol absoluto, acetona, cloroformo, éter.)
- Posterior a ello se procedió agitar suavemente y se observó la solubilidad frente a los diferentes solventes.

3.5.6. Estudio fitoquímico Cualitativo de *Piper peltatum* L.

- **Azúcares reductores:** Se colocó 1ml de extracto acuoso y se añadió 0.5mL de reactivo de Feling A y Feling B, se llevó a baño isotérmico o ebullición, la presencia de un color naranja / rojo ladrillo indica una prueba positiva (75).
- **Flavonoides:** En 1 mL de extracto acuoso se añadió un pedazo de limadura de magnesio y 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado, la presencia de una coloración naranja y/o amarilla es indicador de una prueba positiva (61).
- **Alcaloides:** Se llevó a baño maría 1 mL de extracto acuoso hasta evaporar por completo el solvente, el extracto seco obtenido se procedió a solubilizar con ácido clorhídrico, se calentó ligeramente y se añadió 3 gotas de reactivo del Dragendroff la presencia de un precipitado rojo ladrillo es un indicador de un resultado positivo (75).
- **Saponinas:** Se realizó mediante la prueba de espuma donde una cantidad pequeña de muestra se colocó en un tubo de ensayo con agua y se agitó vigorosamente durante 30 s, la formación de espuma que perdura durante más de 3 minutos es indicador de una prueba positiva (61).
- **Taninos:** A 1 mL de extracto acuso se añadió 3 gotas de cloruro férrico al 1%, la presencia de una coloración azul oscura o verde es indicador de una prueba positiva (61).
- **Aminoácidos:** A un 1 mL de extracto acuoso de le añadió 3 gotas de solución de ninhidrina al 0.25%, se llevó a baño isotérmico durante 5 minutos, el cambio de coloración de un rojizo, verde, amarillo, azul o purpura es indicador de una prueba positiva.

- **Esteroides triterpénicos:** 2 mL de extracto acuoso se llevó a sequedad, al extracto seco obtenido se añadió 1-3 mL de cloroformo hasta solubilizar posteriormente se añadió 1 mL de anhídrido acético, finalmente se añaden 3 gotas de ácido sulfúrico, la presencia de una coloración verde intensa es indicador de una prueba positiva.
- **Lactonas sesquiterpénicas:** 3 mL de extracto acuoso se llevó a sequedad, al extracto seco obtenido se añadió 2 mL de etanol, se añadió 2-3 gotas de reactivo de Baljet.

3.5.7. Cuantificación de polifenoles totales de *Piper peltatum* L

La determinación de polifenoles totales se llevó a cabo mediante el método de Folin - Ciocalteu, el cual fue descrito por Shaidi F. y Naczki M 1995; Sigleton y Rossi, 1965; este método se fundamenta en su carácter reductor, para lo cual es usado una combinación de ácido fosfotungstácico y fosfomolibdico que en un inicio toma una coloración amarilla y en un medio básico el cual es proporcionado por el carbonato de sodio se produce el viraje de color amarillo a color azul en diferentes tonalidades esto es debido a una reacción de reducción originada por los fenoles que tienden a reducir el reactivo de Folin – Ciocalteu formado compuestos como son los óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), la absorbancia se mide a 760 nm y los resultados se expresan en mg de ácido gálico por g de peso seco.

3.5.7.1. Extracción de los polifenoles

Para realizar la extracción de polifenoles de la muestra *Piper peltatum* L. se pesó 0.3 g de ambos tipos de extractos y se disolvió en agua caliente, finalmente se aforó a 25 mL el cual fue almacenado de manera hermética a 4 °C hasta realizar la prueba.

3.5.7.2. Cuantificación de polifenoles totales de *Piper peltatum* L. y elaboración de la curva patrón de ácido gálico.

Se procedió a elaborar una curva patrón de ácido gálico de 0.5 g/L como patrón de referencia, las concentraciones, las cantidades y el orden de cada muestra correspondiente se detalló en la tabla N°9, la mezcla total se procedió a homogenizar en un vortex durante 30 segundos. La mezcla se colocó en un baño isotérmico a 45 °C durante 30 minutos, se leyó la absorbancia a 760 nm contra el

blanco. Finalmente, se determinó la concentración de polifenoles para lo cual se utilizó la curva patrón.

Tabla 9. Procedimiento para la preparación de la curva patrón de ácido gálico y muestras de estudio.

Nº Tubos	Ácido Gálico (ug)	Ácido Gálico (uL)	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	160	0.840	2	2.5	0
P-2	70	140	0.860	2	2.5	0
P-3	60	120	0.880	2	2.5	0
P-4	50	100	0.900	2	2.5	0
P-5	40	80	0.920	2	2.5	0
P-6	30	60	0.940	2	2.5	0
P-7	15	30	0.970	2	2.5	0
P-8	5	10	0.990	2	2.5	0
L-1	0	0	0.5	2	2.5	0.5
L-2	0	0	0.5	2	2.5	0.5
L-3	0	0	0.5	2	2.5	0.5
E-1	0	0	0.5	2	2.5	0.5
E-2	0	0	0.5	2	2.5	0.5
E-3	0	0	0.5	2	2.5	0.5

Fuente: Elaboración propia

3.5.8. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH.

La capacidad antioxidante se determinó mediante el método desarrollado por Brand Williams *et al.*, el cual consiste en hacer reaccionar una concentración del extracto con el radical DPPH (2,2-difenil1-picril hidrazilo), tal radical en un inicio posee un color azul-violeta en medio metanólico el cual fue decolorándose hacia el color amarillo a consecuencia de la donación del electrón, dicha absorción es media a una longitud de onda 517, mediante la diferencia de absorbancias se puede obtener la captación de radicales libres.

3.5.8.1. Preparación de la solución de DPPH.

Se preparó una solución de DPPH 0.096 mM (3.9 mg disueltos en 10 mL de metanol), luego se midió 5 ml de solución de DPPH y se aforó a 50 mL, finalmente dejamos 30 minutos en oscuridad para la activación del reactivo.

3.5.8.2. Preparación de la curva de calibración

Se preparó el trolox 0.5 mM (125 ug/mL) como solución patrón, en tubos de ensayo completamente limpios se colocaron los reactivos en el orden correspondiente a la tabla N°10 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 leyó las absorbancias a una longitud de onda de 517nm y posteriormente se elaboró la curva de calibración.

Tabla 10. Preparación de la curva de calibración de trolox.

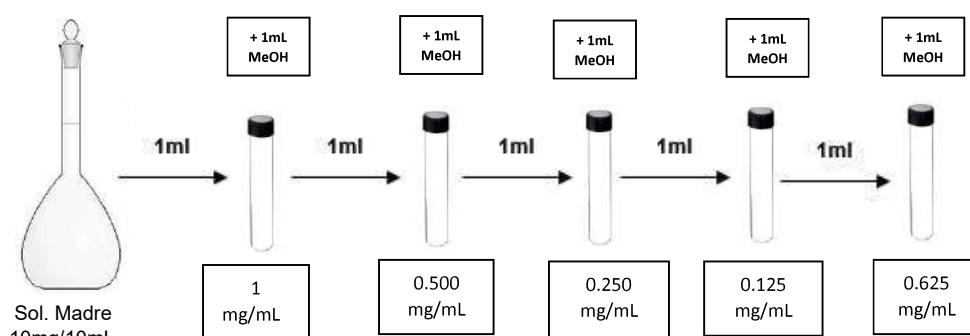
N° Tubos	Trolox 500 uM	Trolox (uL)	Metanol (uL)	DPPH 0.096 mM (uL)
Blanco	-	-	3000	-
Control	-	-	2000	1000
1	1.66	10	1990	1000
2	2.49	15	1985	1000
3	3.33	20	1980	1000
4	4.15	25	1975	1000
5	4.98	30	1970	1000
6	5.81	35	1965	1000
7	6.66	40	1960	1000
8	8.3	50	1950	1000
9	10	60	1940	1000
10	11.62	70	1930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

Fuente: Elaboración propia.

3.5.8.3. 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 obtenidos a partir de la muestra secado mediante liofilización y calor seco (estufa).

Figura 12. Procedimiento DPPH.



Fuente: Elaboración propia.

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

Tabla 11. Preparación de las muestras de acuerdo a cada dilución y

Conc. mg/mL	Muestra (calor seco) (uL)	Muestra (liofilizado) (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.

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

3.5.9. Cuantificación de los flavonoides mediante HPLC

3.5.9.1. Procedimiento.

Para la presente prueba se usó un cromatógrafo líquido de alta resolución modelo Agilent serie 1200, un software Chemstation V03.02, una columna Zorbax SB-Phenyl 4,6 x 75 mm, 3.5 μ m, de la muestra se extrajeron los principios activos mediante un extracto etanólico al 70% de las hojas y tallos de *Piper peltatum* L. se tomó como muestra el extracto líquido de coloración verdosa; para poder aclarar la muestra se filtró con carbón activado. Se usó 0.5 ml del extracto el cual se llevó a una microfiltración de un trompo de 0.45 μ m los cuales se pasaron a viales pequeños para las lecturas en HPLC.

El flujo de inyección fue 0.600 ml/min, se usó dos tipos de solventes un solvente A) H₃PO₄ 0.1%, un solvente B) Acetonitrilo, debido a la polaridad que presenta el compuesto y el que presenta la columna, según el sistema de análisis en el laboratorio de cromatografía y espectroscopía se procedió en un inicio con 0% de solvente de acetonitrilo, pasado los 10 minutos se añadió 20 % del solvente acetonitrilo, a 14 minutos se añadió 40 % del acetonitrilo, a los 18 minutos 50% de acetonitrilo y de 16-19 minutos 100% del solvente acetonitrilo.

La detección se dió a 285 nm con una temperatura de horno 40 °C.

Tabla 12. Condiciones cromatográficas para determinar mediante HPLC.

Equipo	Agilent serie 1200, Software: Chemstation V03.02
Columna	Zorbax SB-Phenyl 4,6 x 75 mm, 3.5 μ m (Eclipse XDB-C18)
Fase móvil	Fase A: H ₃ PO ₄ 0.1% Fase B: Acetonitrilo
Detección	DAD
Longitud de onda	285nm
Flujo	0.600 mL/min.
Temperatura	40.0°C
Volumen de inyección	5 μ L
Tiempo de corrida	19 min.
Laboratorio	Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Fuente: Elaboración propio

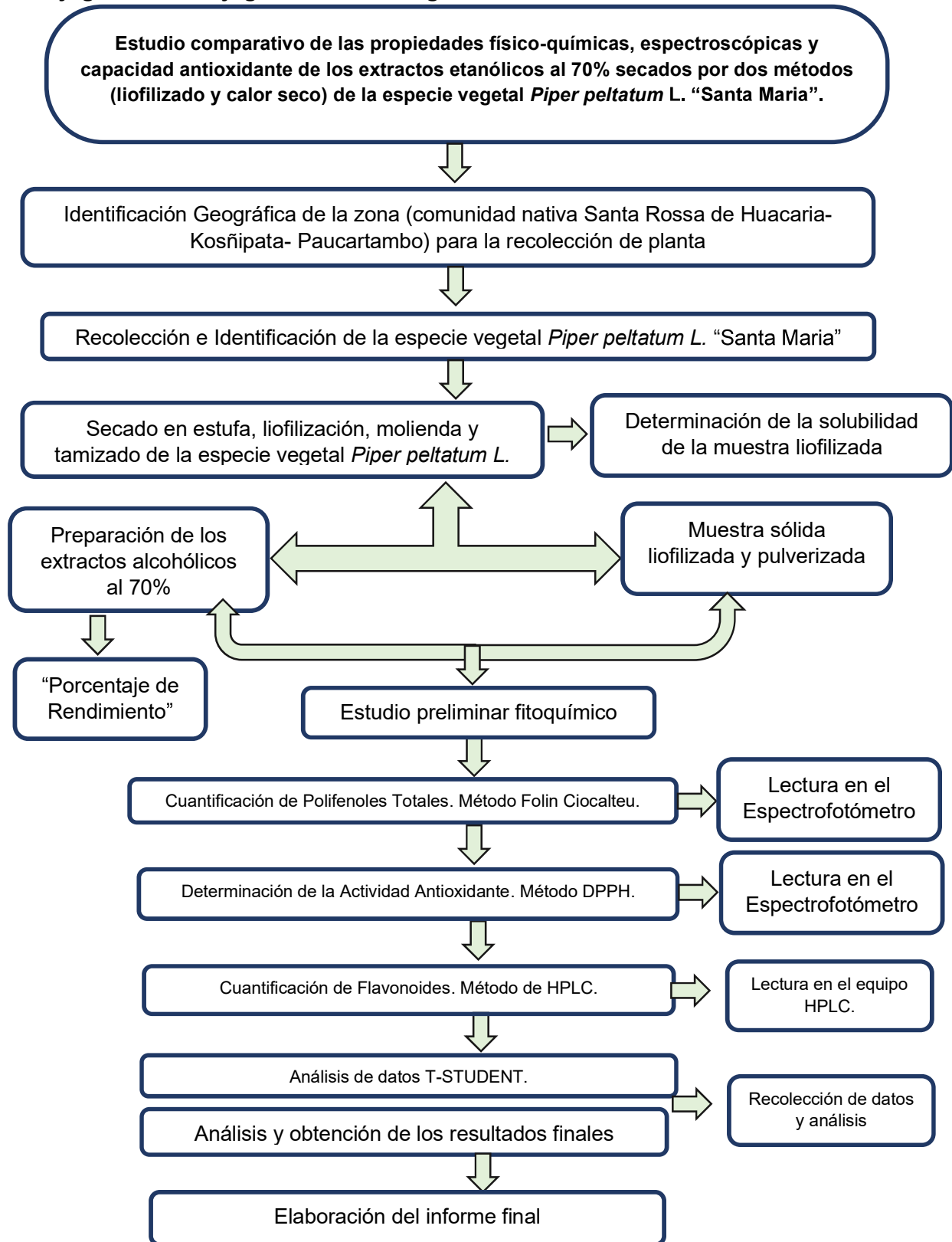
Tabla 13. Gradientes de los solventes usados en la fase móvil de la columna.

Tiempo (min)	Fase A (%)	Fase B (%)
0	100	0
10	80	20
14	60	40
18	50	50
16-19	0	100

Fuente: Elaboración propio

3.6. Flujograma de desarrollo del proyecto

Flujograma 1. Flujograma de Investigación



Fuente: Elaboración propio

3.7. Técnicas de instrumento de recolección de datos

Técnica: En el presente trabajo se utilizó la técnica de observación cuasiexperimental porque implica observar la forma de la especie vegetal, reconocerlas al momento de su recolección, observar los cambios de coloración en las pruebas realizadas, los datos obtenidos se evidenciaron usando algunos artefactos electrónicos como cámaras, celulares, y hojas de recolección de datos para el proceso de investigación.

Instrumentos:

- Para la recolección de datos de la especie vegetal. **(ANEXO N°1)**
- Para la recolección de datos de porcentaje de humedad **(ANEXO N°2)**
- Para la recolección de datos de porcentaje de rendimiento **(ANEXO N°2)**
- Para la recolección de datos de solubilidad **(ANEXO N°3)**
- Para la recolección de datos fitoquímico cualitativo. **(ANEXO N°3)**
- Para la recolección de datos de la actividad antioxidante **(ANEXO N°4)**
- Para la recolección de datos de cuantificación de polifenoles **(ANEXO N°4)**
- Para la identificación de la especie vegetal. **(ANEXO N°5)**
- Para la determinación de la concentración de flavonoides. **(ANEXO N°9)**

3.8. Técnicas para procesamiento y análisis de la información

Para la sección estadística, los datos se organizaron y clasificaron para un adecuado procesamiento de los datos.

Luego de la determinación de cada prueba realizada en laboratorio de forma experimental se obtuvieron datos numéricos en los tres tipos de secciones como fueron cuantificación de polifenoles, actividad antioxidante y cuantificación de flavonoides. Se procedió a analizar los datos en el programa estadístico (SPSS) versión 23 y también se usó el programa Microsoft Excel.

En lo que respecta el manejo de las variables cuantitativas se usó la PRUEBA DE T STUDENT con el análisis de las medias. Todo ello con el propósito de determinar si existe una diferencia estadística significativa, comparando las muestras o tipos de secado y los promedios estadísticos

3.9. Procedimiento general de la investigación.

1. Se empezó la investigación recolectando la especie vegetal *Piper peltatum* L. (Santa maria) en la comunidad nativa Santa Rosa de Huacaria.

2. Se llevó a secado por dos métodos (liofilizado y calor seco) y se preparó los extractos etanólicos al 70% en el laboratorio de CEPLAM de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
3. Se realizó análisis preliminares sobre porcentaje de humedad, porcentaje de rendimiento, solubilidad, análisis fitoquímico cualitativo.
4. Habiéndose obtenidos los extractos secos se realizó la cuantificación de polifenoles mediante el método de folin ciocalteu.
5. Se determinó la capacidad antioxidante mediante la técnica de captación del radical DPPH.
6. Se realizó identificación, cuantificación de los flavonoides de rutina mediante HPLC.
7. Finalmente se recolectaron, analizaron y compararon los datos mediante un análisis estadístico T-student.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Ensayos preliminares

4.1.1. Porcentaje de humedad *Piper peltatum* L. “Santa María”

El análisis de la muestra se hizo pesando las hojas frescas en una balanza analítica GRAM FV-220C y dejándola secar, hasta obtener un peso constante en una estufa MEMMERT a 105°C hasta que la diferencia de peso entre las 2 últimas pesadas se encuentren dentro de la exactitud requerida ($\leq 0,2$ mg) lo que indica que se alcanzó el peso constante.

Los resultados de porcentaje de humedad de la planta *Piper peltatum* L. “Santa María” se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 14. Resultados de porcentaje de humedad de *Piper peltatum* L. “Santa María”

N° de placa Petri	Muestra Fresca (g)	Muestra Seca (g)	Porcentaje de humedad (%)
1	2.0021	0.5635	71.8546
2	2.0023	0.5437	72.8462
3	2.0018	0.5677	71.6405

Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la presente tabla se puede apreciar que el porcentaje de humedad de la planta de las hojas de *Piper peltatum* fue de 72.12 ± 0.002 % promedio un valor relativamente elevado por lo cual se requiere un mayor cuidado de la muestra vegetal porque la presencia de agua condicionaría un ambiente propicio para el crecimiento de microorganismos, pero gracias a este dato se tuvo las consideraciones necesarias de almacenamiento y secado.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según el autor **Sharapin, 2000** (76). el porcentaje de humedad de hojas frescas está dentro de los valores normales para hojas de 20 - 75%. También valores semejantes a la especie se pueden encontrar en el trabajo realizado por **Espinoza 2018** (77). en donde se presentó el resultado del contenido de humedad inicial del *Piper aduncum* L. o matico ($77,23 \pm 0,70\%$) debido a su contexto con bastante humedad y locación de hábitat puesto que provienen de clima húmedo, por otro lado, el autor **Reza, 2011**

(78). según su trabajo de investigación refiere que las hojas de matico poseían un porcentaje de humedad de 84,29%; por lo expuesto según los diferentes autores, en el presente estudio se encontró valores elevados referente al porcentaje de humedad de la especie vegetal *Piper peltatum* L.

4.1.2. Características organolépticas de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa María”.

Los datos se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 15. Resultados de las características organolépticas de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de *Piper peltatum* L. “Santa María”.

Características	Extracto etanólico al 70% (calor seco)	Extracto etanólico al 70% (liofilizado)
Aspecto	Líquido pegajoso	Líquido pegajoso
Color	Verde Oscuro	Verde Oscuro
Olor	Propio de la planta	Propio de la planta
Sabor	Amargo	Amargo

Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°15 se puede evidenciar las características organolépticas de los extractos alcohólicos al 70% obtenidos a partir de dos formas de secado mediante calor seco (estufa) y liofilizado; en ambos tipos de extractos el aspecto es acuoso con un color verde amarillo, un olor propio de la planta y un sabor amargo.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según la autora **Bermúdez, 2017** (10). quien en su trabajo de investigación hace referencia respecto a las características organolépticas del extracto coinciden con los datos obtenidos en el presente estudio respecto al aspecto líquido pegajoso, color verde oscuro, olor propio de la planta, y un sabor amargo; estas características podrían deberse a la diversidad de metabolitos propios de planta en estudio.

4.1.3. Porcentaje de rendimiento de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa María”.

Los resultados de porcentaje de rendimiento de los dos extractos de *Piper peltatum* L. “Santa María” se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 16. Resultados de porcentaje de rendimiento de los extractos de *Piper peltatum* L. “Santa María”.

Secado	Cantidad de materia prima (g)	Cantidad de materia seca (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
Calor seco (estufa)	100	87.91	12.09
Liofilizado	100	87.02	12.98

Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En el presente cuadro se puede evidenciar los datos obtenidos del porcentaje de rendimiento de los extractos etanólicos al 70 % obtenidos a partir de 100 g de materia prima seca procedente de dos formas de secado mediante calor seco (estufa) y liofilizado, obteniéndose una melcocha de 87.91 g en el caso del extracto obtenido a partir de la muestra que fue secado en calor seco y 87.02 g en el caso del extracto obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada; obteniéndose finalmente un porcentaje de rendimiento de 12.09 % en caso de calor seco y un 12.98 % en el caso de liofilizado, siendo liofilizado mayor en un 0.89 % frente a calor seco.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según **Carmona et al. 2014** (79) hace referencia en su trabajo de investigación sobre el porcentaje de rendimientos de 9 plantas del género *Piper*, en donde refiere que los porcentajes de rendimientos obtenidos a partir de 1 kg de materia seca; los porcentajes más elevados ligeramente sobre el 30 % corresponden *Piper auritum* L. y *Piper amalago* L. mientras que el 19.4 % corresponde a un porcentaje de rendimiento correspondiente a *Piper aduncum* L. y el resto de especies vegetales obtuvieron del 21 a 28 %, en el presente trabajo de investigación se obtuvo un porcentaje promedio del 12 % el cual estaría coincidiendo con *Piper aduncum* L. puesto que para obtener dicho porcentaje se utilizó aproximadamente 100 g de materia seca. Por lo cual de

haberse usado una cantidad más elevada de materia seca se hubiera obtenido un porcentaje de rendimiento más elevado.

4.1.4. Determinación de la solubilidad de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa María”.

En la siguiente tabla se presenta los datos correspondientes.

Tabla 17. Resultados de la solubilidad de los extractos etanólicos al 70% de *Piper peltatum* L. “Santa María”

Características	Extracto etanólico al 70% (calor seco)	Extracto etanólico al 70% (liofilizado)
Agua Destilada	+++	+++
Metanol	++	++
Etanol 40%	++	++
Etanol 70%	++	++
Etanol Absoluto	-	-
Acetona	-	-
Cloroformo	-	-
Éter	-	-

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

Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°17 se muestran los resultados obtenidos sobre la solubilidad del extracto seco obtenido a partir de dos formas de secado mediante calor seco (estufa) y liofilizado, en ambas formas de secado se puede evidenciar que los extractos secos obtenidos a partir de las muestras sometidas a dos formas de secado son muy solubles (+++) en agua destilada, son solubles (++) en metanol, etanol al 40%, etanol al 70%, e insolubles (-) en etanol absoluto, acetona, cloroformo y éter. Los cuales pueden evidenciarse en el anexo 10.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según el autor **Varillas et al. 2018** (80) quien hace referencia en su estudio de investigación referente a la especie Vegetal *Piper aduncum* L. Matico el cual pertenece al mismo género de la especie vegetal del presente estudio, demuestra lo siguiente que el extracto seco de matico es soluble en alcohol de 96°, agua destilada como principales solventes el cual coincide con *Piper peltatum* L. Santa Maria que también se evidenció que es soluble en agua destilada y etanol en diferentes concentraciones;

por otro lado también el autor **Varillas et al. 2018** (80) refiere que el extracto seco de Matico no es soluble en compuestos apolares como éter etílico, cloroformo, acetona y por lo que se refiere a *Piper peltatum* L. tampoco son solubles en dichos solventes.

4.1.5. Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa María”.

En la siguiente tabla se presenta los datos correspondientes al análisis fitoquímico cualitativo.

Tabla 18. Resultados del análisis fitoquímico cualitativo de los extractos etanólicos al 70% obtenidos a partir de dos formas de secado de *Piper peltatum* L. “Santa María”

Análisis	Prueba	Extracto etanólico al 70% (calor seco)	Extracto etanólico al 70% (liofilizado)
Azúcares Reductores	Fheling	+++	+++
Aminoácidos	Ninhidrina	+	+
Flavonoides	Shinoda	++	++
Esteroides	Lieberman Burchad	-	-
Alcaloides	Draguendorf	+	+
Taninos	Cloruro férrico	+++	+++
Lactonas	Baljet	+	+
Saponinas	Espuma	-	-

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

Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°18 se pueden evidenciar la presencia de metabolitos secundarios tales como azúcares reductores, taninos en abundante cantidad (+++), flavonoides en regular cantidad (++), lactonas y alcaloides en poca cantidad (+); así mismo se puede evidenciar la ausencia (-) de saponinas y esteroides, los cuales pueden evidenciarse en el anexo 11.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Estos metabolitos coinciden con los reportados como el de la autora **Bermúdez, 2017** (10) donde demostró la presencia de flavonoides, fenoles, taninos, azúcares reductores, así mismo según el autor en su estudio demuestra que no existe la presencia de saponinas como se puede evidenciar en el presente estudio.

Según el estudio reportado por **Mendoza et al., 2022.** (7) también se demostró la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos en esta especie, como demuestra el autor **Bermúdez, 2017** (10); por otro lado, según el trabajo de investigación del autor **Soto, 2015** (17) da a conocer que en la especie *Piper peltatum* L. existe en poca cantidad la presencia de alcaloides y esteroides, lo cual coincide con los datos obtenidos ya que se evidenció la presencia de alcaloides en poca cantidad; de ambos extractos etanólicos secados por dos métodos liofilizado y calor seco se puede concluir que poseen los mismos metabolitos.

4.2. Determinación de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa María”.

4.2.1. Resultados curva de calibración de ácido gálico y muestras

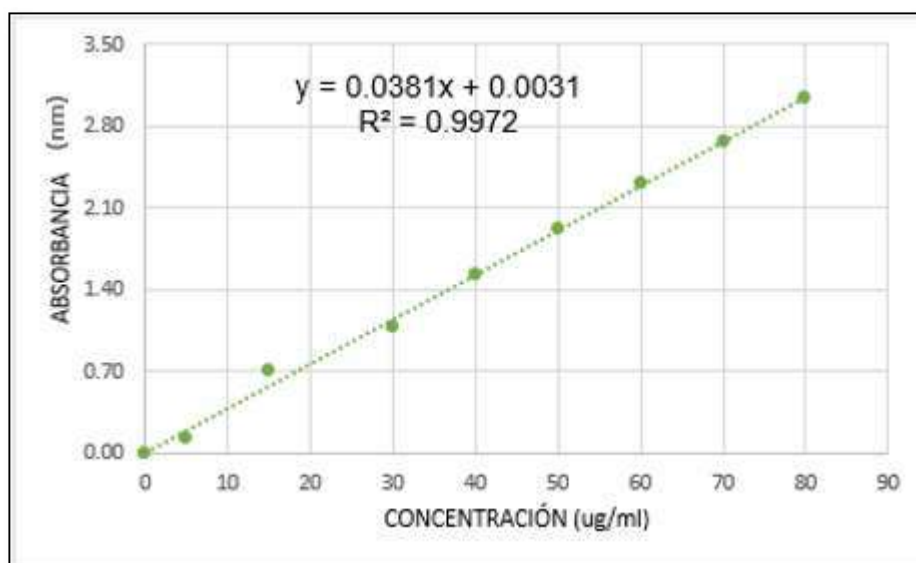
En el Presente cuadro se verifica la elaboración de la curva patrón de ácido gálico.

Tabla 19. Resultados de la elaboración de la curva patrón de ácido gálico

Patrón	Ácido Gálico (ug)	Ácido Gálico (uL)	Absorbancia Promedio (nm)
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
Liofilizado	-	-	0.903
Calor Seco (estufa)	-	-	0.851

Fuente: Elaboración propio

Figura 13. Curva Patrón de ácido gálico



Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la figura N°13 se puede evidenciar los resultados obtenidos de una curva de calibración de ácido gálico se tomaron 8 puntos de referencia y también se tiene las absorbancias promedio de las muestras tanto del secado mediante liofilizado y mediante calor seco (estufa); y en la **Figura N°14** se puede observar la gráfica de la curva de calibración de ácido gálico con una ecuación de recta de pendiente positiva $y = 0.0381x + 0.0031$, y un $R^2 = 0.9972$.

4.2.2. Resultados del contenido de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa María”.

Tabla 20. Contenido de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70 % de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa maria”.

Muestras	Abs (nm)	Cantidad de Extracto (g)	Polifenoles totales	
			Ug Ácido Galico/g MS	g Ácido Galico/100g MS
Liofilizado	0.903	0.3016	1181 ug/mL eq-AG	0.3915 g/mL eq-AG
Calor seco (estufa)	0.851	0.3044	1112.5 ug/mL eq-AG	0.3654 g/mL eq-AG

Fuente: Elaboración propio.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°20 podemos observar los resultados obtenidos sobre la cuantificación de los polifenoles de ambos tipos de muestras provenientes de los dos tipos de secado y se puede apreciar que existe una diferencia considerable en cuanto a ambos resultados, en primer lugar el resultado obtenido de la muestra de liofilizado se preparó una solución de extracto seco (0.3016 g disueltos en 25 mL) a partir del cual se obtuvo un resultado de 1181 ug/mL eq-AG presente en 0.3016 g de materia seca y 0.3915 g/mL eq-AG presentes en 100 g de materia seca, siendo estos datos ligeramente mayores en comparación de los datos obtenidos en para la muestra que fue secado mediante calor seco (estufa); para lo cual se preparó una solución de extracto seco (0.3044 g disueltos en 25 ml) se obtuvo un resultado de 1112.5 ug/mL eq-AG presente en 0.3044 g de materia seca y 0.3654 g/mL eq-AG presentes en 100 g de materia seca, de esta manera se puede ver claramente que la cantidad de polifenoles presentes en el extracto seco obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada difiere en un 68.5 ug/mL eq-AG frente a la cantidad de polifenoles del extracto seco obtenido a partir de la muestra que fue secado mediante calor seco, y los resultados obtenidos en base a 100 g de materia seca difieren en un 0.0261 g/mL eq-AG, Así, podemos concluir que el secado por liofilización presenta una ventaja en la extracción de metabolitos en comparación con el secado mediante calor seco.

4.2.3. Diferencias en el contenido de polifenoles según el tipo de secado (liofilizado y calor seco) prueba T-student diferencia de medias.

Tabla 21. Muestras de las concentraciones de polifenoles según el tipo de secado de *Piper peltatum* L. “Santa María”.

	Liofilizado	Calor seco
Muestra	(ug/mL eq-AG)	(ug/mL eq-AG)
P1	1181,0	1112,5
P2	1182,5	1116,5
P3	1179,5	1110,0
Promedio	1181,0	1113,0
Desviación	1,2	2,7

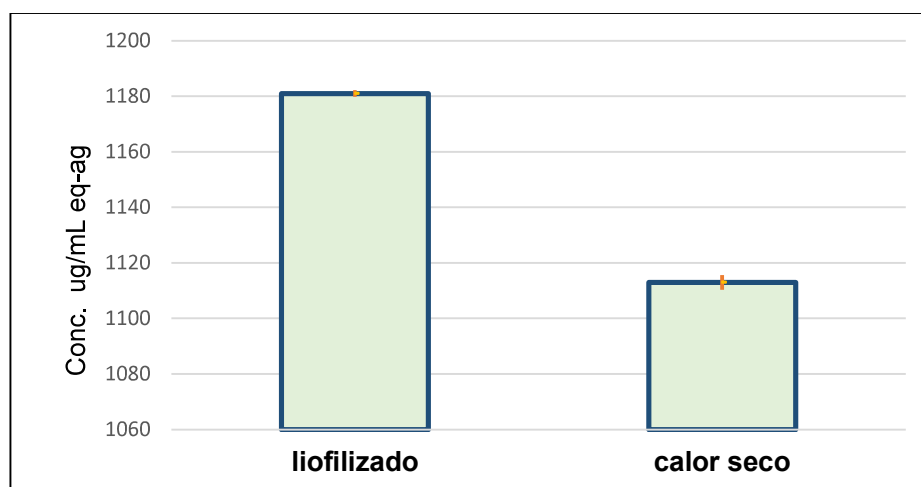
Fuente: Elaboración propio.

Tabla 22. Prueba T-student diferencia de concentraciones de polifenoles según el tipo de secado de *Piper peltatum* L. “Santa maría”.

t calculado	t crítico	gl	Sig.
32,666	2,776	4	0,0001

Fuente: Elaboración propio.

Figura 14. Comparación de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70 % de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa maria”, por los dos métodos de secado.



Fuente: Elaboración propio

Con un sig de 0,0001 menor a 0,005 mostrados en la tabla N° 22; se acepta que existe diferencia significativa en la concentración de polifenoles en las muestras analizadas donde la muestra con mayor promedio proviene de la muestra secada mediante liofilizado indicando que el secado por este medio permite la conservación de los polifenoles.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Mediante el presente trabajo de investigación se realizaron pruebas fitoquímicas y aplicando el método de Folin-Ciocalteu se puede evidenciar la presencia de polifenoles en cantidades de 0.3915 g/ml eq-AG presentes en 100 g del extracto seco obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada y 0.3654 g/ml eq-AG presentes en 100 g del extracto seco obtenido a partir de la muestra que fue secado mediante calor seco, en su estudio de investigación el autor **Alvarado, 2019** (25) refiere que tanto la especie vegetal *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. poseen una alta diversidad de

metabolitos (alcaloides, triterpenos, flavonoides, fenoles, taninos, etc.) con elevada capacidad antioxidante; por otro lado el autor **Soto, 2015** (17) reporta que existe la presencia de flavonoides en la especie vegetal *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. en cantidad de $1,8 \pm 0,16$ y $2,51 \pm 0,15$ g equivalentes a quercetina /100 g de hoja seca respectivamente, así mismo la autora **Gil Padilla, 2019** (1) refiere 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. de lo mencionado anteriormente se infiere que la especie vegetal *Piper peltatum* L. posee presencia de polifenoles, y las cantidades dependerá de la cantidad de muestra utilizada para esta prueba.

4.3. Actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa María”.

4.3.1. Resultados del patrón trolox.

4.3.1.1. Curva de Calibración del patrón trolox y cálculo del IC₅₀.

Los resultados obtenidos de la curva de calibración del patrón trolox se muestran a continuación.

Tabla 23. Resultados de 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	69.1
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	--

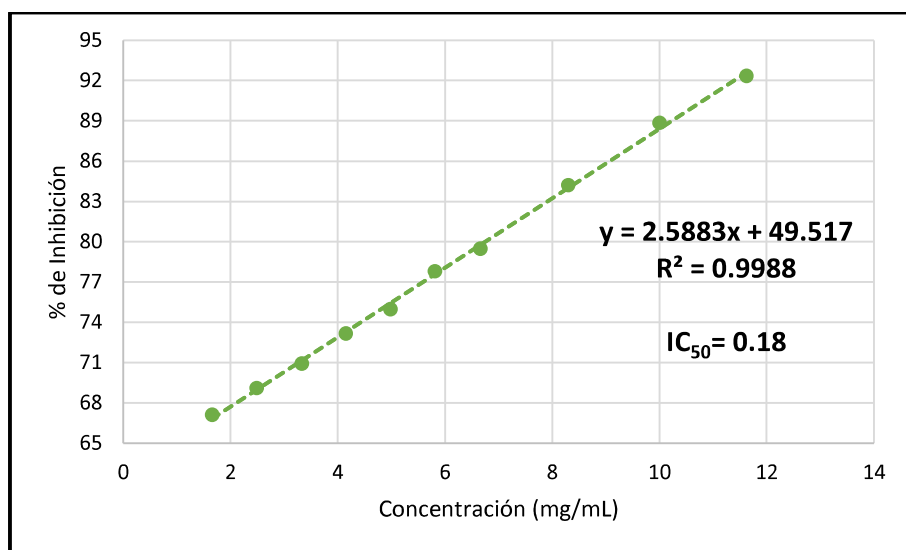
Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°23 se puede apreciar la curva de calibración con el patrón de referencia Trolox; en el cual se tomó 11 puntos con diferentes concentraciones de manera creciente, en la tabla se muestra la lectura promedio de las absorbancias obtenidos mediante el espectrofotómetro de las concentraciones antes mencionada, estas absorbancias nos permitió calcular el porcentaje de captación de radical libre trolox, por el cual se obtuvo un 67.8 % de captación a una concentración de 1.66 ug/ml, un 69.8% a una concentración de 2.49 ug/mL, un 70.91 % a una concentración de 3.33 ug/mL, un 73.16 % a una concentración de 4.15 ug/mL, un 74.97 % a una

concentración de 4.98 ug/mL, un 77.97 % a una concentración de 5.81 ug/mL, un 79.48 % a una concentración de 6.66 ug/mL, un 84.21% a una concentración de 8.3 ug/mL, un 88.83% a una concentración de 10 ug/mL, y finalmente un 92.33% a una concentración de 11.62 ug/mL; a partir de los cuales se puede inferir que “a > concentración del patrón > captación del radical libre > porcentaje de actividad antioxidante”, por lo que se concluye que al presentar mayor concentración del extracto la capacidad antioxidante será mayor

Figura 15. Resultados de la curva patrón trolox concentración vs % de inhibición y cálculo del IC₅₀.



Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la **Figura N°15** se muestra la relación entre la concentración del patrón Trolox y absorbancia de cada concentración, donde se obtuvo el valor de coeficiente de determinación $R^2 = 0.9988$ el cual puede interpretarse como la proporción de la variación entre las dos variables tanto dependiente captación del radical libre y la variable independiente que vendría a ser la concentración, de lo citado anteriormente se puede inferir que el grado de asociación entre ambas variables es del 99.88 %, también se calculó IC_{50} obteniéndose un valor de 0.18 ug/mL; por lo cual se concluye que la actividad antioxidante del patrón depende de la concentración del patrón Trolox.

Figura 16. Resultados del porcentaje de captación del radical DPPH concentración vs absorbancia.



Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la **Figura N°16** se muestra la relación entre la concentración del patrón Trolox y el porcentaje de captación del radical libre DPPH por el patrón Trolox, del gráfico antes mencionado se puede concluir que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La autora **Torres Polanco, 2019** (81) quien en su trabajo de investigación realizó la determinación de la actividad antioxidante tomando como referencia el patrón Trolox en concentraciones similares obteniéndose lecturas de absorbancias similares a las obtenidas en el presente estudio; dando una absorbancia de 0.280 nm para una concentración de 1.66 ug/mL, 0.236 nm para una concentración de 3.33 ug/mL, 0.141 nm, para una concentración de 6.67 ug/mL y una absorbancia de 0.055 nm para una concentración de 10 ug/mL, como se puede observar dichas absorbancias son similares a las obtenidas en el presente estudio. Así mismo el autor **Correa et al.,** (24) en su trabajo de investigación sobre piperaceas determinó la capacidad antioxidante mediante método DPPH y utilizó curva patrón trolox el cual presentó poder reductor del radical DPPH coincidiendo a los resultados obtenidos en el presente estudio, finalmente se puede deducir que el trolox cumple con la función de patrón puesto que su capacidad antioxidante es mayor.

4.3.2. Resultados de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos al 70% secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa María”.

4.3.2.1. Captación de radicales libres del extracto etanólico al 70% secado por el método de calor seco (estufa) de *Piper peltatum* L. (Santa maria) y cálculo del IC₅₀.

Los resultados de la curva de captación del extracto etanólico al 70% de la muestra que fue secado mediante calor seco se muestran en la siguiente Tabla.

Tabla 24. Resultados de absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto etanólico al 70% secado por el método de calor seco de *Piper peltatum* L.; cálculo del IC₅₀ y TEAC.

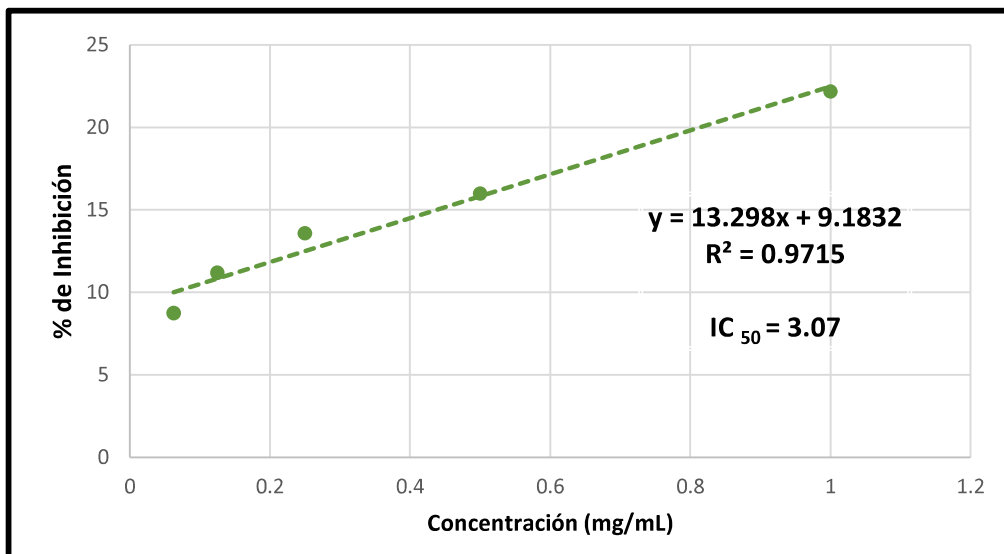
Concentración (mg/mL)	Absorbancia promedio (nm)	Porcentaje de inhibición del radical DPPH. (%)	IC ₅₀ (mg/mL)	TEAC mM
1	0.927	22.173	3.07	0.058
0.5	1.001	15.980		
0.250	1.029	13.588		
0.125	1.058	11.195		
0.0625	1.087	8.745		

Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

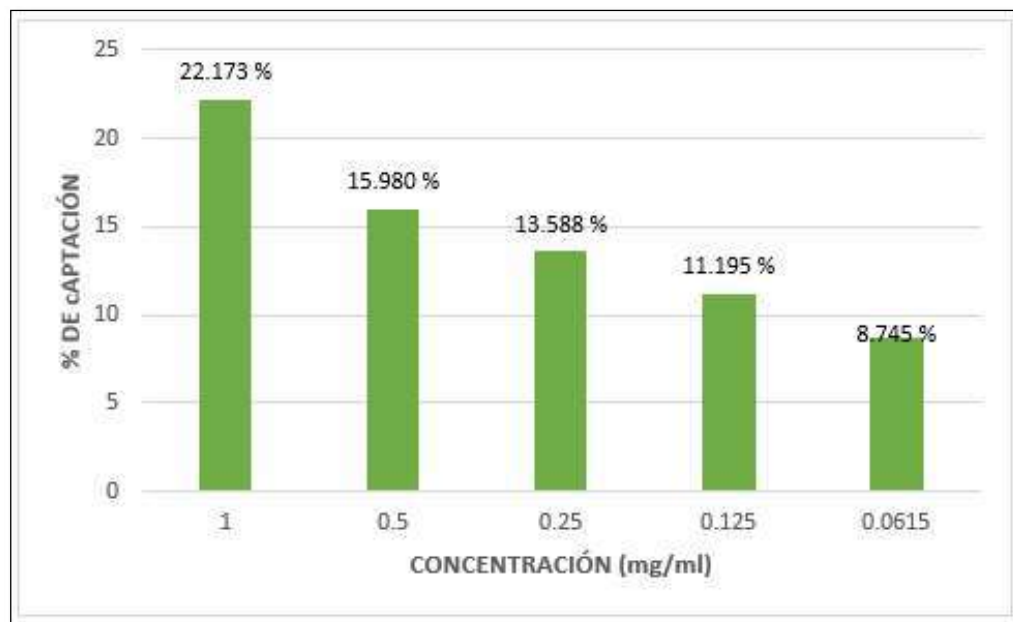
En la tabla N°24 se muestra los resultados del porcentaje de captación de radicales libres del extracto etanólico al 70 % obtenido a partir de la muestra que fue secado mediante calor seco (estufa), obteniendo un resultado de 22.173 % para una concentración de 1 mg/ml de extracto, 15.980 % para una concentración de 0.5 mg/mL de extracto, 13.588 % para una concentración de 0.250 mg/mL de extracto, 11.195 % para una concentración de 0.125 mg/mL de extracto finalmente para una concentración de 0.0625 mg/mL se obtuvo un 8.745 % de captación del radical libre DPPH; de lo anteriormente citado se puede inferir que a mayor concentración del extracto etanólico al 70 % mayor es el porcentaje de actividad antioxidante, por lo que se concluye que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.

Figura 17. Resultado de la curva de concentración vs % de inhibición del extracto etanólico al 70% secado por el método de calor seco de *Piper peltatum* L. frente al radical DPPH y cálculo del IC₅₀.



Fuente: Elaboración propio

Figura 18. Resultados del porcentaje de captación del radical DPPH, concentración vs porcentaje de captación del radical DPPH del extracto etanólico al 70% obtenido a partir del secado en calor seco.



Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la **Figura N°17** se muestra la relación entre la concentración del extracto etanólico al 70 % obtenido a partir de la muestra que fue secado mediante calor seco (estufa) y absorbancia de cada concentración, donde se obtuvo el valor de coeficiente de determinación $R^2 = 0.9715$ el cual puede interpretarse como la proporción de la variación entre las dos variables tanto dependiente captación del radical libre y la variable independiente que vendría a ser la concentración del extracto, de lo citado anteriormente se puede inferir que el grado de asociación entre ambas variables es del 97.15 %; también se calculó el IC_{50} obteniéndose como resultado 3.07 mg/mL; por lo cual se concluye que la actividad antioxidante del extracto etanólico al 70 % obtenido mediante secado en calor seco depende de la concentración del extracto.

En la **Figura N°18** se muestra la relación del extracto etanólico al 70 % obtenido a partir de la muestra que fue secado en calor seco y el porcentaje de captación del radical libre DPPH por las diferentes concentraciones; del gráfico antes mencionado se puede concluir que a mayor concentración del extracto etanólico al 70 % mayor capacidad antioxidante.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según el autor **Gil Padilla**. 2019 (1) en su trabajo de investigación estudió la actividad antioxidante de *Piper aduncum* L. refiere que esta especie vegetal que pertenece a la familia directa de *Piper peltatum* L. cuya actividad antioxidante por el método DPPH fue equivalente a una concentración de 66.03 ± 5.87 mM de trolox/ 1g de muestra seca. Indicando esto que las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) presenta buena cantidad de polifenoles y una actividad antioxidante; en un estudio realizado por **Alvarado, 2019** (25) quién estudio la especie vegetal *Piper peltatum* L. refiere que los extractos contenidos contienen una alta diversidad de metabolitos con elevada capacidad antioxidante, los resultados obtenidos coinciden de manera que la planta *Piper peltatum* L. tiene la capacidad de captar el radical DPPH.

4.3.2.1. Curva de captación de radicales libres del extracto etanólico al 70% obtenido a partir de la muestra de *Piper peltatum* L. que fue liofilizado y cálculo del IC₅₀.

Los resultados de la curva de captación del extracto etanólico al 70% obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada se muestran en la siguiente Tabla.

Tabla 25. Resultados de absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto etanólico al 70% obtenido a partir del liofilizado, cálculo del IC₅₀ y TEAC.

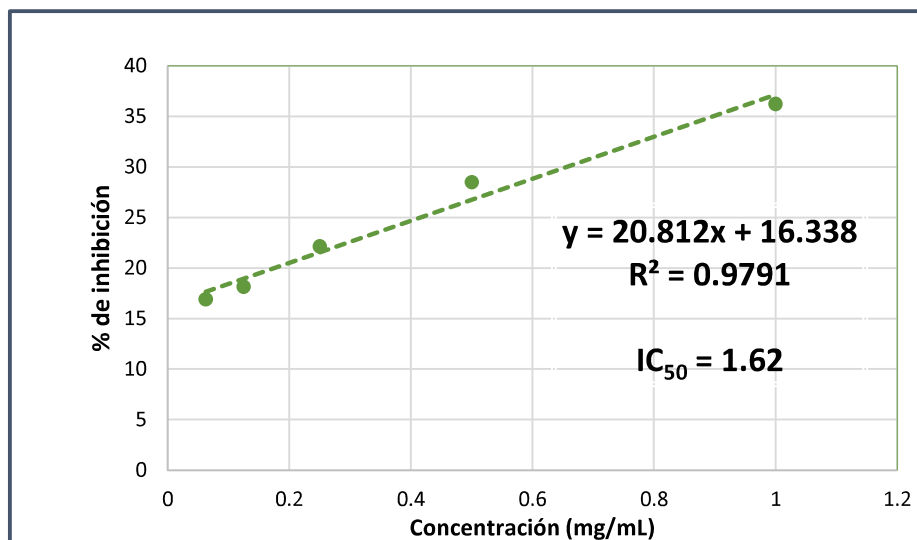
Concentración (mg/mL)	Absorbancia promedio (nm)	Porcentaje de inhibición del radical DPPH. (%)	IC ₅₀ (mg/mL)	TEAC mM
1	0.760	36.260	1.62	0.111
0.5	0.852	28.493		
0.250	0.927	22.173		
0.125	0.975	18.161		
0.0625	0.990	16.928		

Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

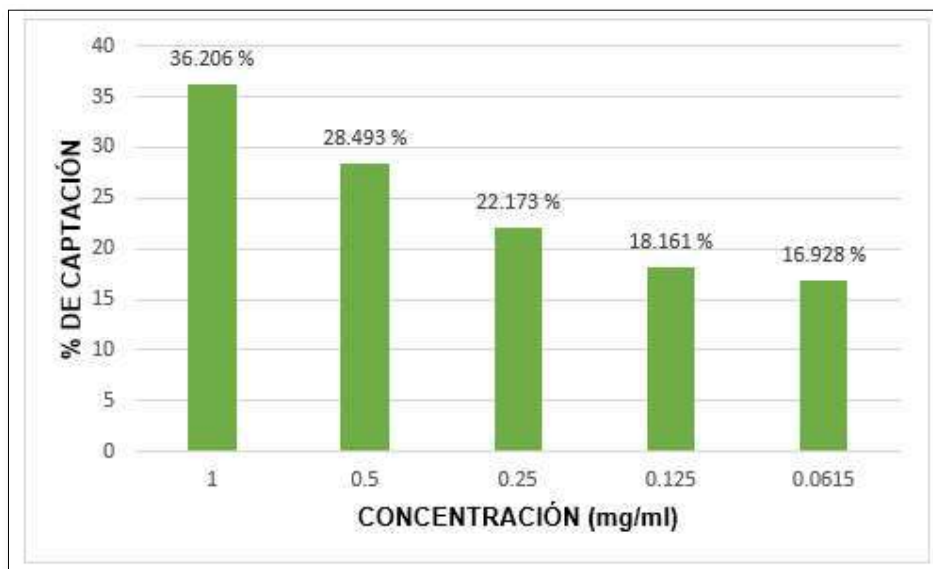
En la tabla N°25 se muestra los resultados del porcentaje de captación de radicales libres del extracto etanólico al 70 % obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada, obteniendo un resultado de 36.260 % para una concentración de 1 mg/mL de extracto, 28.493 % para una concentración de 0.5 mg/mL de extracto, 22.173 % para una concentración de 0.250 mg/mL de extracto, 18.161 % para una concentración de 0.125mg/ml de extracto finalmente para una concentración de 0.0625 mg/mL se obtuvo un 16.928 % de captación del radical libre DPPH; de lo anteriormente citado se puede inferir que a > concentración del extracto etanólico al 70% obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada > el porcentaje de actividad antioxidante, por lo que se concluye que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.

Figura 19. Resultado de la curva de concentración vs absorbancia del extracto etanólico al 70% obtenido a partir del liofilizado frente al radical DPPH capacidad inhibitoria a IC₅₀.



Fuente: Elaboración propio

Figura 20. Resultados del porcentaje de captación del radical DPPH, concentración vs porcentaje de captación del radical DPPH del extracto etanólico al 70% obtenido a partir del liofilizado.



Fuente: Elaboración propio

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la **Figura N°19** se muestra la relación entre la concentración del extracto etanólico al 70 % obtenido mediante liofilizado y absorbancias de cada concentración, donde se obtuvo el valor de coeficiente de determinación $R^2 = 0.9791$ el cual puede interpretarse como la proporción de la variación entre las dos variables tanto dependiente captación del radical libre y la variable independiente que vendría a ser la concentración del extracto, de lo citado anteriormente se puede inferir que el grado de asociación entre ambas variables es del 97.91 %; se calculó el IC_{50} obteniéndose un resultado de 1.62 mg/mL por lo cual se concluye que la actividad antioxidante depende de la concentración del extracto etanólico al 70 % obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada. En la **Figura N°20** se muestra la relación del extracto etanólico al 70 % obtenido de la muestra que fue liofilizada y el porcentaje de captación del radical libre DPPH por las diferentes concentraciones, del gráfico antes mencionado se puede concluir que a mayor concentración del extracto etanólico al 70 % obtenido de la muestra que fue liofilizada mayor capacidad antioxidante.

4.1.1.1. Diferencias en la capacidad antioxidante según el tipo de secado (liofilizado y calor seco) prueba T-student diferencia de medias.

Tabla 26. Muestras de capacitado antioxidante % según el tipo de secado de extracto etanolito al 70% de *Piper peltatum* L. “Santa María”.

Muestra	Liofilizado (%)	Calor seco (%)
P1	36,26	22,17
P2	28,49	15,98
P3	22,17	13,59
P4	18,16	11,2
P5	16,93	8,75
Promedio	24,4	14,3
Desviación	8,0	5,1

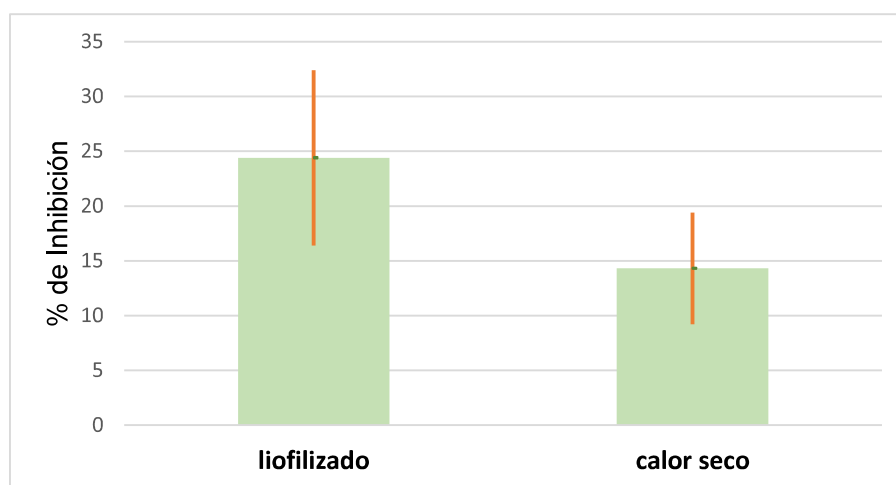
Fuente: Elaboración propio

Tabla 27. Prueba T-student diferencia de capacidad antioxidante según el tipo de secado de *Piper peltatum* L. “Santa María”.

t calculado	t crítico	gl	Sig,
2,363	2,306	8	0,046

Fuente: Elaboración propio

Figura 21. Comparación de capacidad antioxidante de los extractos etanólicos al 70 % de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa maria”, por los dos métodos de secado.



Fuente: Elaboración propio

Con un sig de 0,046 menor a 0,05 existe diferencia en la capacidad antioxidante según el secado sometido donde las muestras secadas por liofilizado presentan un 24,4 % de promedio de capacidad antioxidante en comparación 14,3% de la capacidad antioxidante de las secadas en calor seco, siendo la muestra por liofilizado las que presentan mejor capacidad antioxidante.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De lo mencionado anteriormente se puede inferir que ambos tipos de extractos hidroalcohólico al 70 % obtenidos a partir de las muestras sometidas a dos formas de secado mediante calor seco (estufa) y liofilizado, pueden inhibir el radical DPPH, pero según los resultados obtenidos claramente el extracto obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada difiere en un pequeño porcentaje inhibiendo en mayor porcentaje el radical DPPH en comparación con el extracto obtenido a partir de la muestra que fue secado mediante calor seco; respecto al IC₅₀ de las dos muestras podemos inferir que el extracto etanólico al 70% obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada requiere menor concentración para inhibir el radical DPPH hasta el 50%; por otro lado se obtuvo resultados de capacidad antioxidante TEAC siendo 0.058 mM ET/10 mg de muestra secada por el método de calor seco y 0.111 mM ET/10 mg de muestra liofilizado; los resultados obtenidos podemos comparar con el autor **Puertas et al., 2009** (31) quien en su trabajo de investigación menciona que la especie vegetal *Piper peltatum* L. posee capacidad antioxidante esto debido a la presencia de metabolitos presentes en el

aceite esencial, por otro lado, el autor **Correa et al., 2015** (24) quien estudio estudió 8 especies de piperaceaes, al ser familia directa de la especie *Piper peltatum* L. demostró que las especies *Piper eriopodon*, *Piper crassinervium* y *Piper umbellatum* L. presentaron mejor actividad antioxidante gracias a la presencia de metabolitos como alcaloides, fenoles, taninos, flavonoides, saponinas, y antraquinonas mismos metabolitos presentes en la especie de estudio del presente trabajo de investigación; la autora **Gil Padilla, 2019** (30) que estudio las hojas de *Piper aduncum* L. refiere que esta especie vegetal que pertenece a la familia directa de *Piper peltatum* L. cuya actividad antioxidante por el método DPPH fue equivalente a una concentración de 66.03 ± 5.87 mM de Trolox/ 1g de muestra seca. Indicando esto que las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) presenta buena cantidad de polifenoles y una actividad antioxidante; en otro trabajo realizado por **Alvarado, 2019** (25) quien estudió la especie vegetal *Piper peltatum* L. mencionó que los extractos contienen una alta diversidad de metabolitos con elevada capacidad antioxidante; de esta manera se confirma que la especie *Piper peltatum* L. posee capacidad antioxidante.

En un estudio realizado por el autor **Sethupandiana et al., 2017** (23) sobre la especie vegetal *Piper umbellatum* L. Refiere que el extracto metanólico tiene una buena extracción y muestra una actividad antioxidante significativa. El efecto del poder reductor del extracto de metanol reveló una buena actividad antioxidante en comparación con otros extractos probados como acetona y acetato de etilo. Según los resultados obtenidos sobre *Piper peltatum* L. al ser una especie vegetal familia de *Piper umbellatum* L. coincide con lo enunciado por el autor y su estudio puesto que *Piper peltatum* L. también tiene la capacidad de inhibir el radical DPPH. En otro estudio realizado por **Ingaroca, 2018** (26) estudió a la especie vegetal *Piper aduncum* L. refiere que el aceite esencial de matico presentó baja capacidad antioxidante, lo cual difiere con los datos obtenidos sobre *Piper peltatum* L. y *Piper umbellatum* L. que si tienen buena capacidad antioxidante.

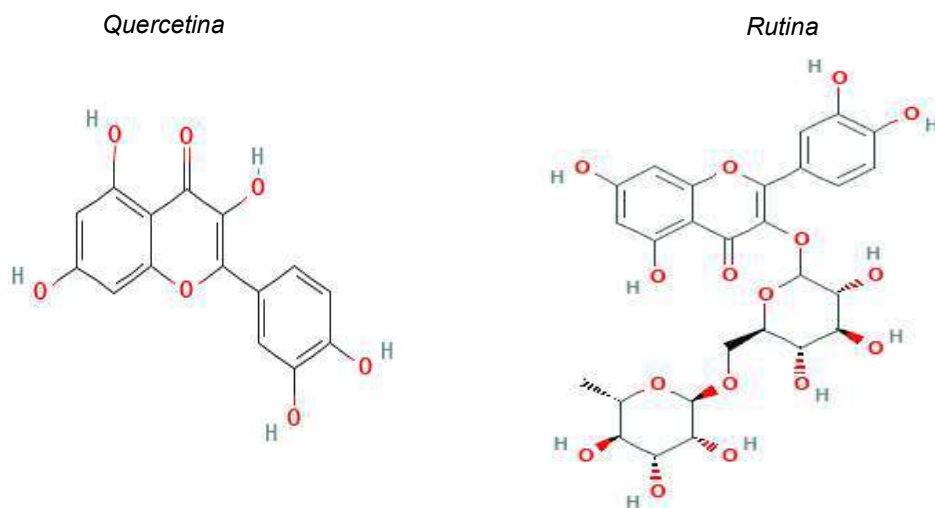
Por los resultados mostrados anteriormente se aprecia que ambos extractos hidroalcohólicos al 70% secados por dos método liofilización y mediante calor seco, tienen la capacidad de inhibir el radical DPPH, pero el tipo de secado podría influir en la extracción de metabolitos puesto que un liofilizado al ser un tipo de secado a una temperatura baja y separar el agua de la muestra conserva de mejor manera la estructura de la molécula manteniéndola en su mayoría intacta y los porcentajes de inhibición son ligeramente mayores frente a un secado mediante calor seco.

4.4. Resultados de la identificación de flavonoides mediante HPLC de los extractos etanólicos al 70 % secados por dos métodos (lío-filizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L.

Para poder realizar la lectura de las muestras se usó el equipo HPLC (Cromatógrafo Agilent serie 1200, Columna: Zorbax SB-Phenyl 4,6 x 75 mm, 3.5 μ m) permitiendo la sensibilidad del método analítico y un 60% más de capacidad resolutive.

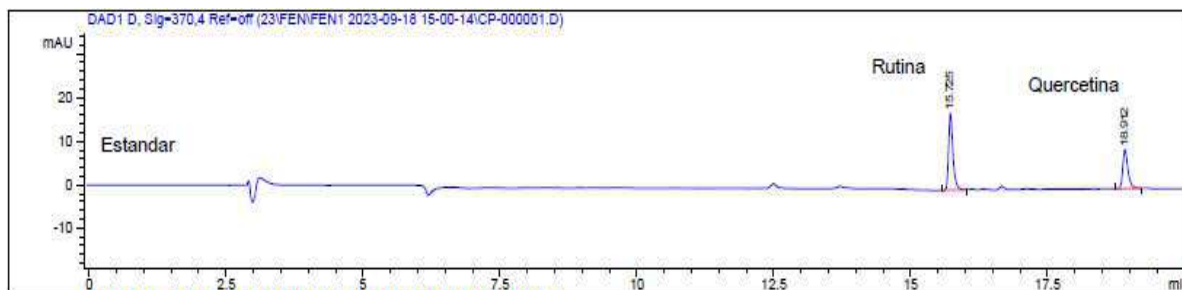
En la figura 22. Se presentan las estructuras químicas de los estándares de rutina y quercetina, utilizados.

Figura 22. Estructuras químicas de los estándares utilizados en las pruebas.



Fuente: Azúa Araya. (82)

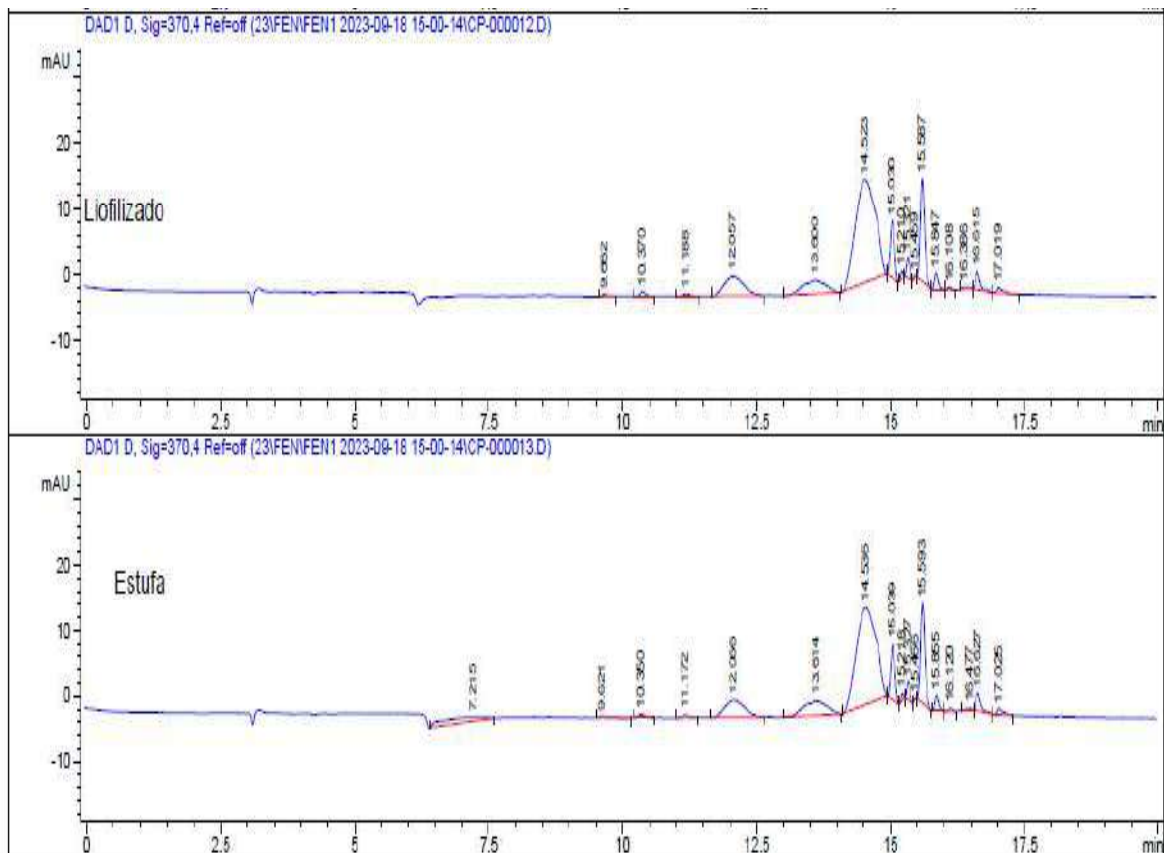
Figura 23. Cromatograma de los 2 estándares rutina y quercetina.



Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

En la figura N°23 podemos apreciar el cromatograma con los tiempos de retención de los estándares de rutina (15.675 min) y quercetina (18.900 min) (datos brindados por la biblioteca virtual Chemstation B03.02), se consideraron estos patrones por tener datos de la literatura científica de **Gilbert et al., 2022** (83) donde se encontró que las especies vegetales del género *Piper* poseen metabolitos rutina y quercetina.

Figura 24. Cromatograma de los extractos hidroalcohólicos al 70 % secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de *Piper peltatum* L.



Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

En la figura N°24 se puede apreciar los espectros de ambos tipos de muestras de extracto hidroalcohólico 70% proveniente de dos formas de secado liofilizado y calor seco (estufa), en donde evidentemente poseen cromatogramas similares tanto en los tiempos de retención y los picos apreciados, a continuación, mostraremos los tiempos de retención obtenidos de las muestras y los estándares.

Tabla 28. Estándares de rutina y quercetina sus tiempos de retención.

N°	Nombre del Compuesto	Tiempo de Retención (min)
1	Rutina	15.725
2	Quercetina	18.912

Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Tabla 29. Resultados de los tiempos de retención de los extractos hidroalcohólicos al 70 % secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. (Santa maria).

Picos	Tiempo de retención (calor seco)	Tiempo de retención (liofilizado)
1	12.07	12.06
2	13.61	13.60
3	14.54	14.52
4	15.04	15.03
5	15.22	15.21
6	15.33	15.32
7	15.47	15.46
8	15.59	15.59
9	15.86	15.85

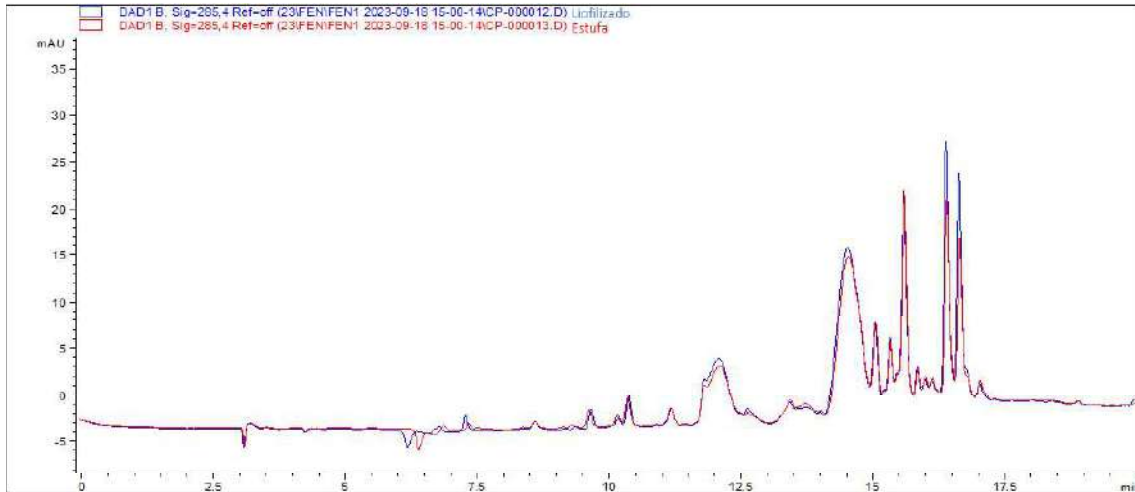
Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

En la tabla N°28 y tabla N°29 se pueden apreciar los tiempos de retención de los estándares rutina, quercetina y de las muestras de los extractos hidroalcohólicos al 70% provenientes de dos formas desecado liofilizado.

Podemos analizar que los tiempos de retención de las muestras no coinciden directamente con el estándar de quercetina. En cambio, podemos observar que el estándar de rutina coincide ligeramente en tiempos de retención, desde el pico 5 al pico 9 a los extractos, lo que nos indica que es posible que en nuestros extractos

tengamos la presencia de rutina propiamente o podría tratarse de algún derivado de rutina, para lo cual analizaremos los espectros UV.

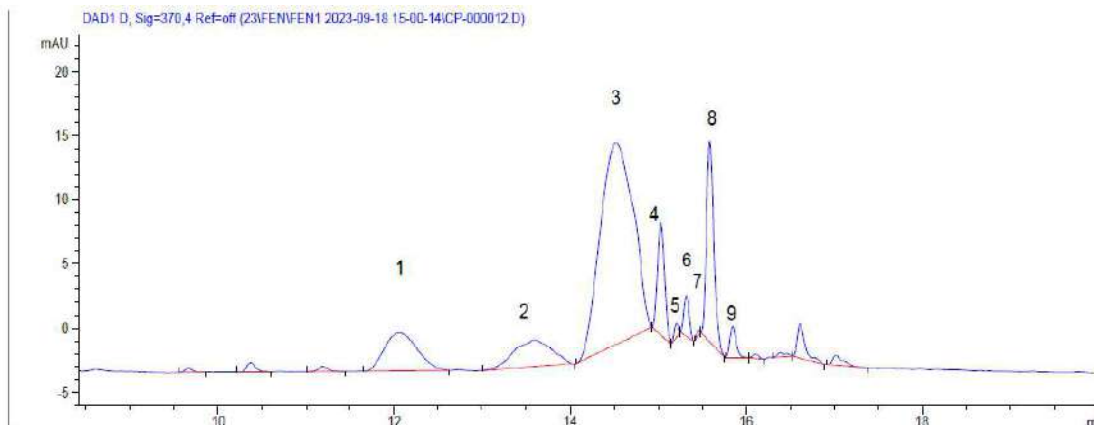
Figura 25. Superposición de los cromatogramas de los extractos etanólicos al 70 % secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) de *Piper peltatum* L.



Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

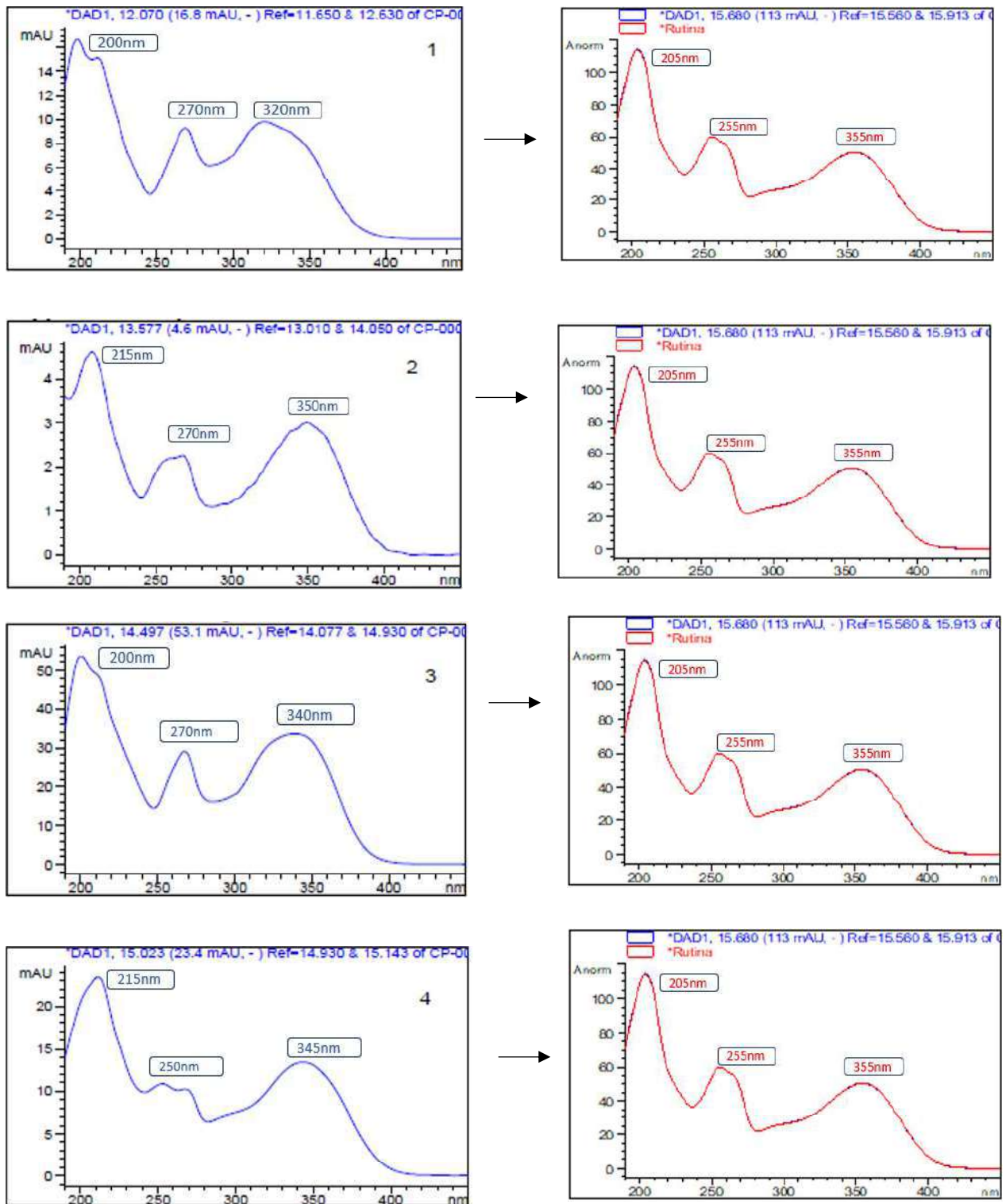
Los cromatogramas de ambos extractos hidroalcohólicos al 70 % obtenidos a partir de las muestras que fueron sometidas a dos formas de secado mediante calor seco (estufa) y por liofilización, son casi idénticas solo diferenciándose por la pequeña altura de los picos, lo que nos da a conocer que ambos extractos tienen los mismos componentes con una pequeña variación en la cantidad, continuación, en la figura N°24 se muestran los 9 picos enumerados de las muestras provenientes de dos formas de secado.

Figura 26. Cromatograma del extracto etanólico al 70 % con los picos enumerados.

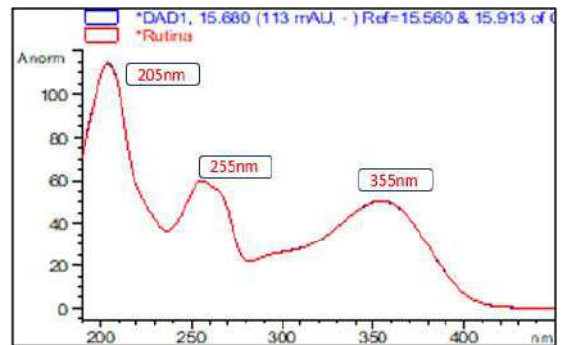
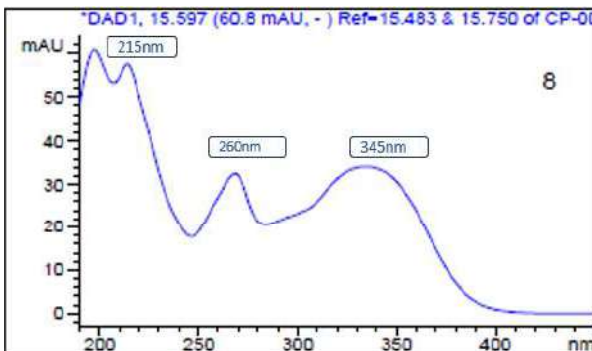
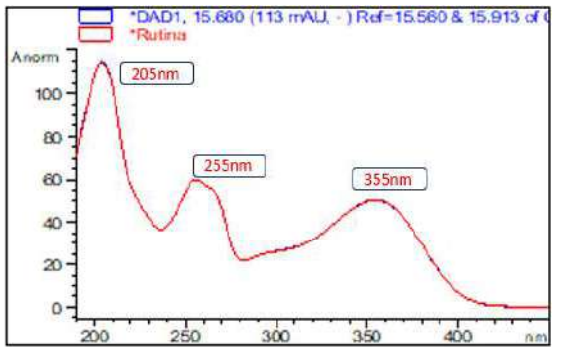
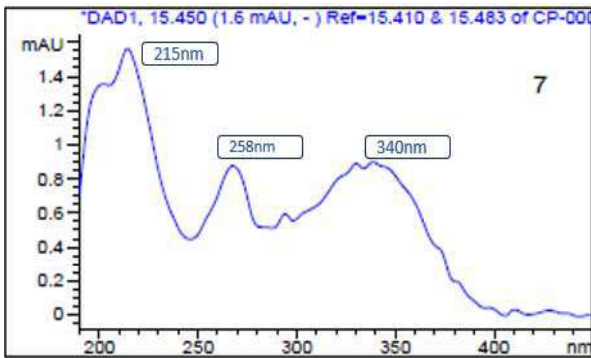
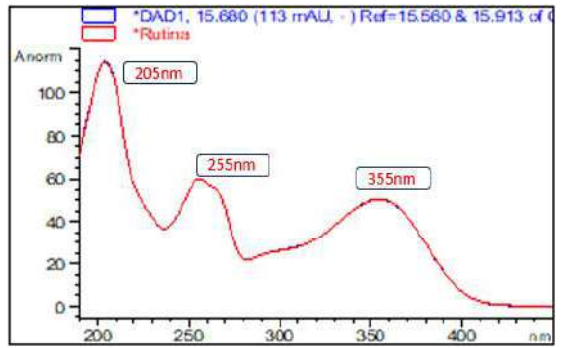
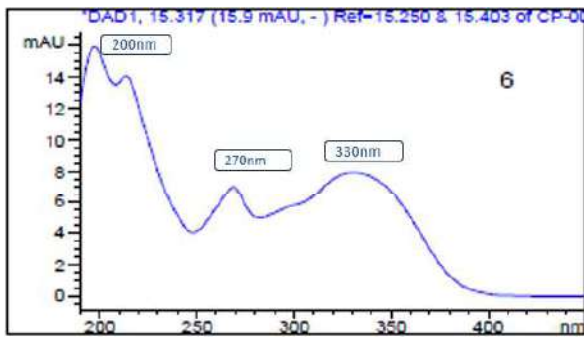
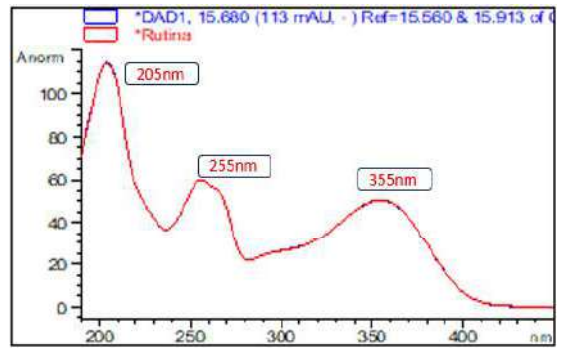
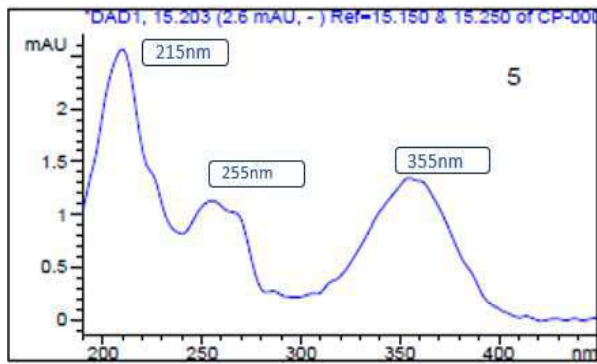


Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

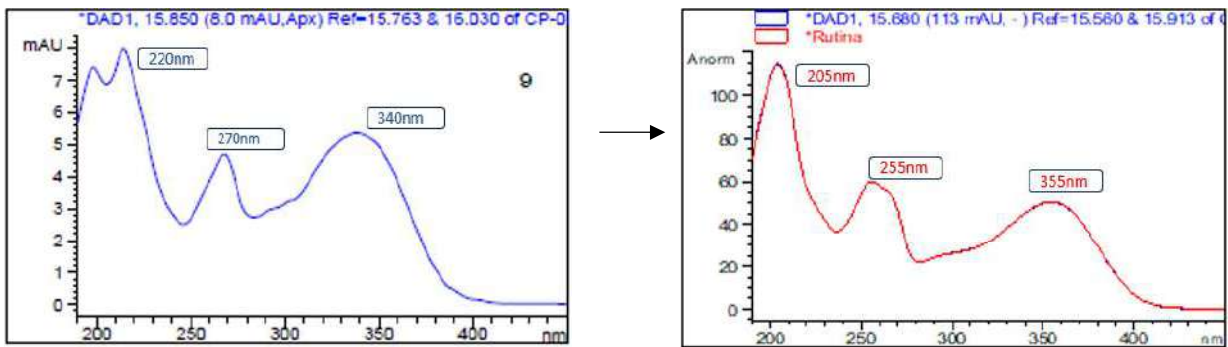
Figura 27. Espectro UV de cada pico enumerado y comparado con el espectro UV del estándar de Rutina.



Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco



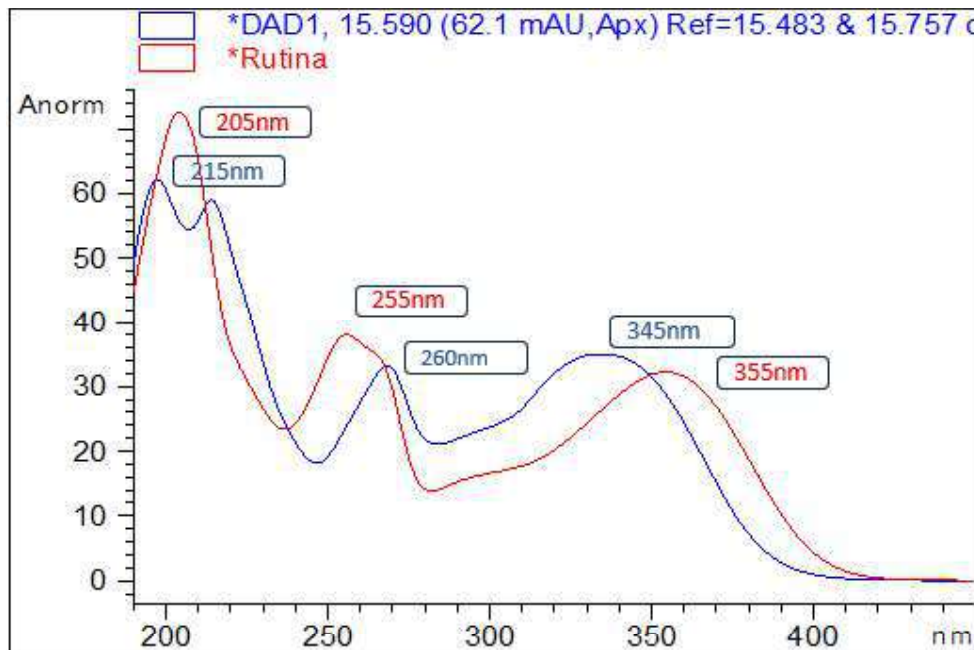
Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco



Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Para determinar la presencia de rutina en nuestro extracto se realizó una comparación de los espectros UV del estándar rutina y espectro UV de los 9 picos de los extractos; como se puede apreciar en las figuras 24 y 25 se tiene el espectro de masas de cada pico del cromatograma de la muestra con su respectiva numeración lado izquierdo y de lado derecho se puede apreciar el espectro de masas del estándar de rutina, para llevar a cabo la comparación con sus respectivas longitudes de onda; los espectros no son idénticos a los del patrón rutina en la misma posición ni en la misma longitud de onda, como se puede evidenciar en la siguiente gráfica, para lo cual se realizó la superposición de ambos espectros con el pico número 8 que es el que más se aproxima.

Figura 28. Superposición del espectro UV del pico número 8 y el espectro UV del estándar de rutina.



Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

En la figura N°28 mostrada se puede apreciar que ambos espectros no coinciden en su totalidad, tienen pequeñas variaciones en las longitudes de onda y en forma de los picos, podría tratarse de un derivado del estándar de rutina que vendrían a ser alguna rutina glicosilada, pero exactamente no se puede afirmar que sea rutina.

4.4.1. Diferencias en la concentración de flavonoides según Eq rutina ug/mL según el tipo de secado (liofilizado y estufa), prueba T-Student diferencia de medias.

Tabla 30. Muestras de Eq Rutina ug/mL según el tipo de secado de los extractos etanólicos al 70% de *Piper peltatum* L. “Santa María”.

	Liofilizado	Estufa
Muestra	Eq Rutina ug/mL	Eq Rutina ug/mL
P1	54,6	49,4
P2	45,1	48,6
P3	284	262,2
P4	35,1	33,6
P5	3,6	3,4
P6	10,4	9,6
P7	2	1,8
P8	62,3	61,2
P9	9,7	9,5
Promedio	56,3	53,2
Desviación	88,3	81,4

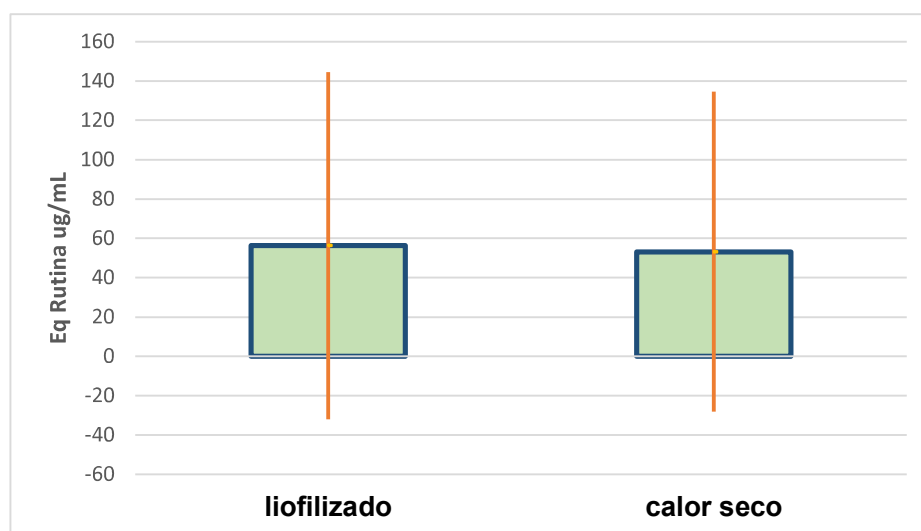
Fuente: Elaboración propio

Tabla 31. Prueba T-student diferencia de Eq Rutina ug/mL según el tipo de secado de *Piper peltatum* L, “Santa María”.

t calculado	t critico	gl	Sig,
0,076	2,119	16	0,940

Fuente: Elaboración propio

Figura 29. Comparación de la concentración de flavonoides de los extractos etanólicos al 70 % de la especie vegetal *Piper peltatum* L. “Santa maria” por los dos métodos de secado.



Fuente: Elaboración propio

De las muestras analizadas para cada tipo de secado, se encuentra que las muestras presentan promedios semejantes de 56,3 y 53,2 Eq Rutina ug/mL de en su concentración de flavonoides, donde en la prueba t de diferencia de medias el valor sig es de 0,94 mayor a 0,05; por lo tanto no tiene significancia, entonces se acepta que estos dos medios de secado son similares para la determinación de flavonoides por HPLC.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En un estudio realizado por el autor **Müller, 2015** (84) evidencia que las lecturas de los estándares en especial el de la rutina se puede apreciar una lectura más exacta a 280nm, por lo tanto, en el presente estudio se hizo las lecturas a 285 nm.

El autor **Gilbert et al., 2022** (83) en su trabajo de investigación estudio las especies vegetales *Piper peltatum* L. y *Piper umbellatum* L. en donde mostró que estas dos especies poseen metabolitos rutina y quercetina, pero los datos obtenidos en el presente estudio difiere ligeramente ya que por lo expuesto anteriormente en las figuras y tablas tantos los tiempos de retención y los espectros de masas no coinciden en su totalidad por que se podría tratar de algún derivado de rutina. Por otro lado, según el autor **López, 2013** (85) en su trabajo de investigación determinó la presencia del polifenol rutina con un tiempo de retención de 17.23 min. Una cifra que no es muy

lejana al dato obtenido en el presente estudio y el resultado obtenido tanto de calor seco (estufa) y liofilizado es 15.59 min, pero por los datos obtenidos en el presente estudio se trataría de un derivado de rutina. En otro estudio realizado por el autor **Müller, 2015** (84) en su trabajo de investigación determinó la presencia de Rutina en *Piper aduncum* por comparación de tiempos de retención de sus estándares de 26.26 min y de sus muestras, se mostró el tiempo de retención 26.54 min, lo cual difiere ligeramente ya que no podemos afirmar que sea directamente rutina más por el contrario podría tratarse de un derivado de rutina.

CONCLUSIONES

1. El estudio comparativo de los extractos hidroalcohólicos al 70% secado por dos métodos (liofilizado y calor seco) de la especie vegetal *Piper peltatum* L. "Santa María". presentaron propiedades físico - químicas, espectroscópicas y capacidad antioxidante similares, así mismo presentaron cromatogramas y tiempos de retención cercanos al del estándar de rutina.
2. El resultado del porcentaje de humedad de la especie vegetal *Piper peltatum* L. fue de 72.12 ± 0.002 % en promedio, el porcentaje de rendimiento fue de 12.09% del extracto obtenido a partir de la muestra que fue secado mediante calor seco (estufa) y 12.98% del extracto obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada; por otro lado se determinó la solubilidad de ambos extractos resultando muy soluble en agua, en lo referente al tamizaje fitoquímico se evidenció la presencia aminoácidos, flavonoides, taninos y lactonas en poca cantidad.
3. El contenido de polifenoles totales equivalentes en ácido gálico del extracto obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada fue 1181 ug/ml eq-AG presente en 0.3016 g de extracto seco y en lo que refiere al extracto obtenido a partir de la muestra que fue secado mediante calor seco (estufa) se obtuvo 1112.5 ug/ml eq-AG presente en 0.3044 g de extracto seco, de esta manera se evidenció que la cantidad de polifenoles presentes en el extracto obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada difiere en un 68.5 ug/mL eq-AG frente a la cantidad de polifenoles del extracto obtenido a partir de la muestra que fue secado en estufa.
4. Se utilizó una curva patrón trolox a diferentes concentraciones obteniéndose una inhibición del radical libre DPPH de manera progresiva, en lo referente a las muestras, ambos extractos pueden inhibir el radical DPPH, pero el extracto obtenido a partir de la muestra que fue liofilizada lo hace en un porcentaje ligeramente mayor en comparación al extracto obtenido a partir de la muestra que fue secado mediante calor seco (estufa), se cálculo IC_{50} obteniéndose resultado de 3.07 mg/mL (calor seco) y 1.62mg/mL (liofilizado), concluyéndose que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.
5. Para la identificación de flavonoides mediante técnica de HPLC se usó el estándar de rutina y quercetina cuyos tiempos de retención fueron 15.725 y 18.912 respectivamente, los resultados obtenidos mostraron que ambos extractos secados por dos métodos (liofilizado y calor seco) presentaron cromatogramas similares con 9 picos en ambos casos, así mismo los tiempos de retención mostraron similitud y se obtuvieron tiempos cercanos al de estándar rutina, pero

el espectro UV de cada pico no coincide completamente con el espectro UV de estándar de rutina, por lo tanto el compuesto podría tratarse de un derivado de rutina.

RECOMENDACIONES

A LAS AUTORIDADES Y DOCENTES

- Incentivar y promover el estudio de plantas medicinales con la creación y equipamiento de nuevos laboratorios que faciliten los estudios futuros.
- Fomentar la publicación de artículos científicos en revistas indexadas.
- Capacitar a los estudiantes sobre el manejo de los equipos de investigación desde su formación en pregrado.

A LOS ESTUDIANTES

- Profundizar estudios sobre identificación de metabolitos mediante técnica de HPLC usando más estándares de flavonoides y polifenoles.
- Realizar estudios adicionales sobre efecto antiinflamatorio y antibacteriano de la planta *Piper peltatum* L. "Santa Maria"
- Realizar investigaciones similares usando métodos enzimáticos sobre capacidad antioxidante y de esta manera comparar los resultados con los métodos estudiados.
- Formular un preparado magistral con el extracto de la planta *Piper peltatum* L. Santa Maria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gil Padilla Y. Actividad antioxidante y contenido de polifenoles del extracto metanolico de las hojas de Piper aduncum L. (Matico). 205001303226535th ed. [Tesis] , editor. Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles Chimbote, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2019. Disponible en: https://repositorio.uladec.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/26535/PIPER_ADUNCUM_ACTIVIDAD_ANTIOXIDANTE_GIL_PADILLA_YUSBEL_LETICIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
2. Soto Vásquez MR. Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de Piper peltatum L. y Piper aduncum L. procedentes de la región Amazonas. In Crescendo. Institucional. [Artículo]. 2015; 6(1). Disponible en: <https://revistas.ucv.edu.pe/index.php/ucv-scienza/article/view/1165/1067>
3. 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, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/b11cf4d1-b34a-454f-baec-bfd77626f3c0/content>
4. Coronado M, Vega y León S, Gutiérrez R, Vázquez M, Radilla C. Antioxidantes: Perspectiva Actual Para la Salud Sumana. Revista Chilena de Nutrición [Artículo]. 2015; 42(2). Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
5. Pérez Jiménez. Efecto de Fibra Antioxidante de Uva en Status Antioxidante y Parámetros de Riesgo Cardiovascular en Humanos [Tesis] , editor. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Ciencias; 2007. Disponible en: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/1671/6494_perez_jimenez_jara.pdf?sequence=1&isAllowed=y
6. Espinoza Campos FO. Actividad Antioxidante in vitro y efecto de los extractos de *Virola calophylla* (SPRUCE), *Caryocar glabrum* (AUBL.) Y *Tapirira guianensis* (AUBL.) en el perfil de Ácidos Grasos de *Mus musculus*. Región de Loreto [Tesis] , editor. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Escuela de Postgrado; 2020. Disponible en: https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/6933/Freddy_Tesis_Doctorado_2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y
7. 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. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/827/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. 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, Escuela de Postgrado en Farmacia y Bioquímica; 2016. Disponible en: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916099/efecto-del-gel-de-extracto-etanolico-de-hojas-de-piper-aduncum-_wI5KjKi.pdf
9. 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, Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2019. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/9706/1/56T00840.PDF>
10. 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, Escuela

- de Bioquímica y Farmacia; 2017. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7938/1/56T00746.pdf>
11. Arroyo J, Hamilton W, Moreno L, Reaz E. Estudio Anatómico e Histoquímico de los Órganos Vegetativos de *Piper adundum* L. (piperaceae). *Polibotanica Instituto Politécnico Nacional de México* [Artículo]. 2022; 6(54). Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/polib/n54/1405-2768-polib-54-185.pdf>
 12. Grupo Técnico de Expertos en Plantas Medicinales OPS/OMS. Situación de las Plantas Medicinales en Perú. 2nd ed. Lima: Panamericana ; 2018. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 13. Derren de Arrúa R, González Y. Plantas utilizadas en la medicina popular paraguaya como antiinflamatorias. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* [Artículo]. 2014; 13(3). Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85631010001.pdf>
 14. Bermúdez A, Oliveira Miranda M, Velázquez D. La Investigación Etnobotánica Sobre Plantas Medicinales: Una Revisión de sus Objetivos y Enfoques Actuales. *Revista de Ciencia y Tecnología de América* [Artículo]. 2005; 30(8). Disponible en: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442005000800005
 15. 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* [Artículo]. 2016; 77(4). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102555832016000400002&Ing=e
 16. Madero GA. Conexión Cinvestav, Gobierno de México. [Online]; 2021. Acceso 2 de Agosto de 2022. Disponible en: <https://conexion.cinvestav.mx/Publicaciones/eval250an-efecto-antiinflamatorio-y-analg233sico-de-los-flavonoides>.
 17. 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* [Artículo]. 2015; 6(1). Disponible en: <https://revistas.ucv.edu.pe/index.php/ucv-scientia/article/view/1165/1067>
 18. Pullaguari Ochoa MJ. Aislamiento, Caracterización y Actividad Antifúngica de Metabolitos Secundarios Aislados a Partir de la Especie *Piper umbellatum* L. [Tesis] , editor. Ecuador: Universidad Tecnica Particular de Loja, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2014. Disponible en: <https://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/8369?mode=simple>
 19. Olga Lock RR. Química y Farmacología de *Piper aduncum* L. (Matico). *Revista de Química* [Artículo]. 2004; 32(4).
 20. León B. El libro Rojo de las Plantas Endémicas del Peru: Piperaceae Endémicas del Perú. 1st ed. Leon B, editor. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad Ciencias Biológicas; 2006. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/1894/1663>
 21. Vargas Huertas LF. Estudio de metabolitos característicos y polifenoles de las especies *Capsicum annum* y *Piper nigrum*, cultivadas en Costa Rica [Tesis] , editor. Costa Rica: Universidad de Costa

- Rica, Programa de Posgrado en Química; 2022. Disponible en: <https://www.kerwa.ucr.ac.cr/server/api/core/bitstreams/cf8d872f-6277-4f1a-945c-7a8dea85dbb7/content>
22. Valdivia Avila AL, Rubio Fontanills Y, Camacho Campos C, Brea Maure O, Matos Trujillo M, Sosa del Castillo M, et al. "Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de Piper auritum Kunth". Avances en Investigación Agropecuaria [Artículo]. 2018; 1(22). Disponible en: <http://ww.ucol.mx/revaiia/portal/pdf/2018/enero/6.pdf>
 23. Sethupandian G, Kokkaiah I, Palanichamy M. Evaluación de las Actividades Antioxidantes y de Eliminación de Radicales Libres de Diferentes Extractos de Solventes de Hojas de Piper umbellatum. Assian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research [Artículo]. 2017; 10(2). Disponible en: <https://journals.innovareacademics.in/index.php/ajpcr/article/view/15570/9789>
 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 [Artículo]. 2015; 2(19). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v20n2/pla03215.pdf>
 25. 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, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial; 2019. Disponible en: <https://revista.unibagua.edu.pe/index.php/dekamuagropec/article/view/33/12>
 26. Ingaroca Tejeda SP. Composición química, actividad antioxidante y efecto fungistático sobre Candida albicans del aceite esencial de Piper aduncum L. "matico" [Tesis], editor. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018. Disponible en: <https://core.ac.uk/reader/323352510>
 27. Taípe Pardo F, Merino Quispe I, Agreda Cerna HW, Huaraca Aparco R, Flores Pacheco NF, Quispe Chipana. Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de aceites esenciales en hojas de plantas medicinales. Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias [Artículo]. 2023; 7(21). Disponible en: <https://revistaalfa.org/index.php/revistaalfa/article/view/295/760>
 28. 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 [Artículo]. 2021; 2(4). Disponible en: <https://revistas.unsaac.edu.pe/index.php/ACS/article/view/837>
 29. 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 Minthostachys setosa (briq.) epling "Muña" sobre cepas Streptococcus mutans (ATCC 35668) CUSCO -2015 [Tesis], editor. Cusco: Universidad Andina del Cusco Escuela Profesional de Odontología; 2015. Disponible en: <https://repositorio.uandina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12557/269/RESUMEN.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
 30. 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, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2019. Disponible en: https://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/26535/PIPER_ADUNCUM_ACTIVIDAD_ANTIOXIDANTE_GIL_PADILLA_YUSBEL_LETICIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

31. Puertas Mejía M, Gómez Chabala L, Rojano B, Sáez Vega J. Capacidad antioxidante in vitro de fracciones de hojas de *Piper peltatum* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, [Artículo]. 2009; 14(2). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v14n2/pla07209.pdf>
32. Rojas Castillo M, Rumay Risco AL. Determinación de la actividad antioxidante in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Piper aduncum* procedente de la provincia de San Marcos departamento de Cajamarca. [Tesis] , editor. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2010. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/server/api/core/bitstreams/d87a6df6-f5b2-4c5a-b8fb-d18c8431a80f/content>
33. Surco Laos F, Ayquipa Paucar H, Quispe Gamboa W, García Ceccarelli J, Valle Campos M. Determinación de polifenoles totales y actividad antioxidante de extracto de semillas de uvas residuos de la producción de piscos. *Rev Soc Quím Perú* [Artículo]. 2020; 86(2). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v86n2/2309-8740-rsqp-86-02-123.pdf>
34. Delgado Paredes G, Kato M, Vásquez Dueñas N, Minchala Patiño , Rojas Idrogo C. Cultivo de tejidos de *Piper* sp. (Piperaceae): Propagación, organogénesis y conservación de germoplasma in vitro. *Revista Colombiana de Biotecnología* [Artículo]. 2012; 14(2). Disponible en: Cultivo de tejidos de *Piper* sp. (Piperaceae): Propagación, organogénesis y conservación de germoplasma in vitro (unam.mx)
35. Delgado Paredes G, Kato M, Vásquez Dueñas N, Minchala Patiño J, Rojas Idrogo. Cultivo de Tejidos de *Piper* sp. (Piperaceae): Propagación, Organogénesis y Conservación de Germoplasma in Vitro. *Revista Colombiana de Biotecnología* [Artículo]. 2012; 14(2). Disponible en: Cultivo de tejidos de *Piper* sp. (Piperaceae): Propagación, organogénesis y conservación de germoplasma in vitro (unam.mx)
36. Mejía Carhuana 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. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/L017.pdf>
37. Furlan M, Kato MJ. Chemistry and Evolution of the Piperaceae. *Pure and Applied Chemistry* [Artículo]. 2007; 79(4). Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1351/pac200779040529/html?lang=en>
38. Rocha e Silva F, da Silva Pinto C, Martin Pohlit A, Jacques Quignard EL, Ribeiro Vieira P, Pedro Tadei W, et al. In Vivo and In Vitro Antimalarial Activity of 4-Nerolidylcatechol. *Phytotherapy Research* [Artículo]. 2011; 25(p 1181–1188). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21302338/>
39. Plazas E, Cuca L, Delgado W. Flavonoides Aislados de las Inflorescencias de *Piper hispidum* Kunth (Piperaceae) y Derivados Acetilados. *Revista Colombiana de Química* [Artículo]. 2008; 37(2). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcqv/v37n2/v37n2a02.pdf>
40. Breitbach U, Niehue , Lopes , Faria , Brandão. Plantas Medicinales Amazónicas Brasileñas Descritas por CFP von Martius en el Siglo XIX. *Sciencedirect Revista de Etnofarmacología* [Artículo]. 2013; 147(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23500885/>
41. Mayor Oxilia R. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Revista Instituto de Medica Tropical* [Artículo]. 2010; 5(2). Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/imt/v5n2/v5n2a05.pdf>

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, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UPAG_423495a38b07289e3abb9670f6b7e5c8
43. Venereo Gutierrez J. Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar* [Artículo]. 2002; 31(2). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v31n2/mil09202.pdf>
44. García Alonso J, Periago PM, Vidal Guevara L, Cantos Villar E. Assessment of the Antioxidant Properties During Storage of a Dessert Made from Grape, Cherry and Berries. *Journal of Food Science* [Artículo]. 2003; 68(4). Disponible en: https://www.academia.edu/120257610/Assessmentof_the_Antioxidant_Properties_During_Storage_of_a_Dessert_Made_from_Grape_Cherry_and_Berries
45. Avello M, Suwalsky M. Radicales Libres, Antioxidantes Naturales y Mecanismos de Protección. [Proyecto de Investigación]. Santiago de Chile: Universidad de Concepción de Chile, Departamento de Farmacia. ISSN 0716-1840. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/atenea/n494/art10.pdf>
46. Constanza Corrales L, Muñoz Ariza MM. Estrés oxidativo: Origen, Evolución y Consecuencias de la Toxicidad del Oxígeno. *Revista Científica en Ciencias Biomédicas* [Artículo]. 2012; 10(18). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>
47. Mandavilli BS, Santos JH, Van Houten B. Mitochondrial DNA Repair and Aging. En Mandavilli BS, Santos JH, Van Houten B. *Mutation Research*. New York: Elsevier; 2002. p. 127–151. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0027510702002208?via%3Dihub>
48. Muñoz Jáuregui AM, Ortiz Ureta CA, Blanco Blasco T, Castañeda Castañeda B, Ruiz Quiroz J, Alvarado Yarasca Á. Determinación de Compuestos Fenólicos, Flavonoides Totales y Capacidad Antioxidante en Mielles Peruanas de Diferentes Fuentes Florales. *Rev Soc. Quím Perú*. [Artículo]. 2014; 80(4). Disponible en: <https://repositorio.usil.edu.pe/server/api/core/bitstreams/cd39d9ae-9dfb-462f-8202-95504849d79a/content>
49. Murray R, Bender D, Botham K, Kennelly P, Rodwell V, Weil A. Harper. *Bioquímica ilustrada*. 28th ed. Hernández GR, editor. Santa Fe: Mc Graw Hill; 2010.
50. Juli Mamani DM, Arias Jordan E. “Antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en dos clones de papa nativa del genero *solanum* de pulpa azul y roja” [Tesis] , editor. Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco Escuela Profesional de Química; 2011.
51. Guyton A, Hall J. *Tratado de Fisiología Médica*. 13th ed. Jackson , editor. Mississippi: Elsevier; 2018.
52. López L. A, Fernando A. C, Lazarova Z, Bañuelos V R, Sánchez R SH. Antioxidantes, un Paradigma en el Tratamiento de Enfermedades. *Asociación Nacional Científica de Estudiantes de Medicina (ANACEM)* [Artículo]. 2012; 6(1). Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/lil-640042>
53. Martínez Arias L, Panizo García S, Carrillo López N, Barrio Vázquez S, Quirós González I, Román García P, et al. Efecto de la Enzima Antioxidante Catalasa en la Calcificación Vasculare y

- Desmineralización ósea. Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral [Artículo]. 2017; 9(1). Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/romm/v9n1/1889-836X-romm-9-01-00013.pdf>
54. Berg G. Vitamina E: Un tema siempre presente, nunca concluido. Revista Argentina de Cardiología [Artículo]. 2010; 78(5). Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3053/305326948017.pdf>
55. Avila Sandoval S, Gomez Pinedo U, Canales Aguirre A, Gutiérrez Mercado K, Pandilla Camberos E, Marquez Aguirre L, et al. Efecto Neuroprotector de Fitoquímicos en Cultivo de Neuronas Dopaminérgicas. Neurología [Artículo]. 2019; 34(2). Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-neurologia-295-articulo-efecto-neuroprotector-fitoquimicos-cultivo-neuronas-S0213485316300779>
56. Pedreño López Y. Los Antioxidantes Polifenólicos, un Complemento Alimenticio Saludable. Revista Eubacteria [Artículo]. 2012; 1(28). Disponible en: <https://www.um.es/eubacteria/antioxidantes.pdf>
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. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Nutrición Hospitalaria, [Artículo]. 2013; 28(1). Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v28n1/05revision05.pdf>
58. Ramírez Navas S. Liofilización de Alimentos. 1st ed. ReCiTeIA , editor. Cali Colombia: Universidad del Valle; 2006. Disponible en: <https://www.calameo.com/read/00043365419cd1f250c9c>
59. Romero Cunias G. Liofilización de Zumo de Naranja de la Variedad Valencia y Tangelo y su Influencia en la Degradación de la Vitamina C [Tesis] , editor. Tarapoto: Universidad Nacional de San Martín, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial; 2020. Disponible en: <https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/11458/3804/1/FIAI%20-%20Gilmer%20Romero%20Cunias.pdf>
60. 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 [Artículo]. 2013; 15(3). Disponible en: <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/153/145>
61. García Martínez E, Fernández Segovia I, Fuentes López A. Universitat Politècnica de València. [Online]; 2001. Acceso 20 de Juliod 2022. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>.
62. 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 – Chíncha. [Tesis] , editor. Ica: Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2019. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/server/api/core/bitstreams/df39ef88-d134-4ea4-bf47-5f1c6bfffab0/content>
63. Ruíz Poveda P. Flavonoides del género *Sideritis* (Lamiaceae) por HPLC [Tesis] , editor. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Médicas; 2005. Disponible en: https://www.europeana.eu/da/item/9200101/BibliographicResource_1000126626902

64. Marreros Castañeda SH. Determinación de flavonoides y ácidos fenólicos por HPLC-DAD en los extractos de las flores de *Citrus sinensis* (naranja), *Citrus limetta* (lima) y *Prunus pérsica* (durazno). [Tesis] , editor. Chimbote: Universidad Católica los Ángeles Chimbote, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2020. Disponible en: https://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/23495/ACIDOS_FENOLICO_S_CITRUS_LIMETTA_MARREROS_CASTANEDA_SADITH_HEINS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
65. Chavez Chavez JD. Determinación y cuantificación de flavonoides mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) a partir del extracto polar ácido de *Euphorbia laurifolia* juss ex lam y su actividad tóxica. [Tesis] , editor. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Escuela Profesional de Química; 2018. Disponible en: <https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/a92772ca-bf37-4b69-95dc-1bdb7e0fbdef/content>
66. Macedo Márquez A. La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas [Artículo]. 2012; 15(2). Disponible en: <https://gdocu.upv.es/alfresco/service/api/node/content/workspace/SpacesStore/0fc53ce9-a267-4235-85bb-31be388412c0/TOC03601101.pdf?gues t=true>
67. Valencia Avilés E, Ignacio Figueroa I, Sosa Martínez E, Bartolomé Camacho MC, Martínez Flores HE, García Pérez ME. Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. Revista de la Facultad de Ciencias Químicas [Artículo]. 2017; 1(16). Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v15n2/v15n2a3.pdf>
68. González Costa M, Padrón González A. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. Revista Habanera de Ciencias Médicas [Artículo]. 2019; 18(1). Disponible en: <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/quimica/article/view/1583/1238>
69. Male , Male V, Stokes Peblees R. Inmunología. 9th ed. Tarradellas J, editor. Barcelona: Elsevier; 2021. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v18n1/1729-519X-rhcm-18-01-30.pdf>
70. Fernández Duharte , Zapata Blanco E, Santiesteban Sauqué , Lescay Bell , Rosell Torres. Uso y abuso de las prostaglandinas. Medisan [Artículo]. 2015; 19(1). Disponible en: <https://edimeinter.com/catalogo/inmunologia/inmunologia-9a-edicion-2021/>
71. Pulido Suárez NJ, Cruz Carrillo A. Eficacia de los extractos hidroalcohólicos de dos plantas sobre garrapatas adultas *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu [Artículo]. 2013; 14(1). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v19n1/san15191.pdf>
72. 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 Química del Perú [Artículo]. 2016; 82(3). Disponible en: <https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/348/417>
73. Suarez Ospina D, Morales Hernández Y. Principios Básicos de la Cromatografía Llíquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas. Revista Semilleros [Artículo]. 2018; 4(1). Disponible en: <https://repositorio.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/7731>
74. Ladino Torres R, Lopez Carrillo LJ. Estudio Cromatográfico por HPLC-DAD, en Extractos Acetonicos de las especies *Gnaphalium Elegans*, *Achyrocline Satuireioides* Y *Achyrocline Bogotensis*. 1st ed.

- [Tesis] , editor. Bogotá: Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas, Facultad de Química ; 2016. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371949374003>
75. 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.
76. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Serie Ciencia y Tecnología. 1st ed. Pinzón R, editor. Bogotá: Convenio Andrés Bello; 2000. Disponible en: https://books.google.com.pe/books/about/Fundamentos_de_tecnolog%C3%ADa_de_producto_s.html?id=XH2HzSJJPywC&redir_esc=y
77. 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, Escuela Profesional de Ingeniería en Industria Alimentaria; 2018. Disponible en: <https://repositorio.unas.edu.pe/items/80cb9852-4a66-4fff-b214-b175d2209c50>
78. Reza Tabaraki ZY, Hossein Ali AG. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Malva sylvestris L. *Journal of Research in Agricultural Science* [Artículo]. 2011; 8(1). Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Antioxidant-properties-and-some-phytochemical-of-L-Petkova-Popova/7886548ff128c1431a3b0a58f0d5a29bc3e768fd>
79. Carmona Hernandez O, Fernandez Mds, Palmeros Sanchez B, Lozada Garcia JA. Actividad Insecticida de Extractos Etánolicos Foliare de nueve Piperaceae en *Drosophila melanogaster*. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental* [Artículo]. 2014; 30(Número especial sobre ambiente y genética). Disponible en: <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/45981>
80. Varillas Alania 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, Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2018. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UIGV_5714ffd0c2d27d737238bccbe7655760/Details
81. 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, Escuela Profesional de Química; 2018.
82. Azúa Araya S. Evaluación del efecto de la adsorción de los flavonoides quercetina y rutina en la estabilidad química de emulsiones pickering O/W emulsificadas con nanopartículas de sílice mesoporosas [Tesis] , editor. Santiago de Chile: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; 2022. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/191536>
83. Gilbert B, Ferreira AL, Fátima FR. *Piper peltatum*, *P. umbellatum*. 2nd ed. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2022. Disponible en: <https://books.scielo.org/id/p7jsg/pdf/gilbert-9786557081778-11.pdf>
84. Müller Sepúlveda AJ. Actividad antioxidante de extractos estandarizados de hojas de matico y llantén y su efecto sobre la capacidad antioxidante plasmática y los niveles basales de MDA plasmáticos en ratas tratadas oralmente con estos extractos [Tesis] , editor. Santiago:

Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; 2015. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/136625>

85. López Corona MGB. Identificación y cuantificación del ácido clorogénico y de flavonoides presentes en hojas y frutos de *Crataegus gracilior* PHIPPS. [Tesis] , editor. Santiago de Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2013. Disponible en: <https://ri-ng.uaq.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/6982/RI000926.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Anexo N°1

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL *PIPER PELTATUM* L.
"Santa maria"**

Características	Detalles
Nombre Científico	<i>Piper peltatum</i> L.
Nombre Común	"Santa Maria"
Fecha de Recolección	Junio del 2022
Nombre de la Localidad	Departamento: Cusco Provincia: Cusco Distrito: Kosñipata Comunidad: Santa Rosa de Huacaria
Tipo de Vegetación:	Arbusto
Hábito	Hierba () Arbusto (x) Árbol ()
Abundancia	Común (x) Escasa () Rara ()
Tamaño	215 cm aprox
Parte Recolectada	Hojas (x) Tallos (x) Flores (x)
Época de Florecimiento	Mayo- Julio
Usos	Emplastos para golpes y Dolores musculares
Nombre Completo del Informante	- Alberto Manqueriapa
Nombre de los Recolectores	- Tapia Maruri Daniela - Benito Castro Oscar
Observaciones	

Anexo N°2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA ANÁLISIS DE PORCENTAJE DE HUMEDAD, CARACTERÍSTICAS ORGANOLPÉTICAS (EXTRACTOS), PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE *Piper peltatum* L. "Santa María"

N° de placa Petri	Muestra Fresca (g)	Muestra Seca (g)	Porcentaje de humedad (%)
1			
2			
3			

Características	Extracto etanólico al 70% (calor seco)	Extracto etanólico al 70% (liofilizado)
Aspecto		
Color		
Olor		
Sabor		

Secado	Cantidad de materia prima (g)	Cantidad de materia seca (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
Calor seco (estufa)			
Liofilizado			

Anexo N° 3

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA ANÁLISIS PRELIMINAR DE GRADO DE SOLUBILIDAD Y ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE *PIPER PELTATUM* L. "Santa María"

Características	Extracto etanólico al 70% (calor seco)	Extracto etanólico al 70% (lío­filizado)
Agua Destilada		
Metanol		
Etanol 40%		
Etanol 70%		
Etanol Absoluto		
Acetona		
Cloroformo		
Éter		

Prueba	Resultado
Metabolitos Secundarios	<ul style="list-style-type: none"> - Azucares Reductores () - Flavonoides () - Alcaloides () - Taninos () - Saponósidos () - Aminoácidos () - Resinas ()
Obervaciones	

Anexo N°4

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CUANTIFICAR POLIFENOLES TOTALES

Fecha:

Actividad antioxidante de los extractos etanólicos al 70 % secado por dos métodos (liofilizado y calor seco) de *Piper peltatum* L. "Santa maria" mediante método químico del radical DPPH.

N° de Tubo	Extracto	DPPH (mL)	Abs nm
B			
C1			
C2			
M1e			
M2e			
M3e			
M1-Li			
M2-Li			
M3-Li			

Cuantificación de polifenoles totales de los extractos etanólicos al 70 % secado por dos métodos (liofilizado y calor seco) de *Piper peltatum* L. "Santa maria" mediante método químico del radical Folin- Ciocalteu.

N° de Tubo	Extracto	Reactivo Folin-Ciocalteu (mL)	Abs nm
B			
C1			
C2			
M1e			
M2e			
M3e			
M1-Li			
M2-Li			
M3-Li			

Donde:

- B: Blanco
- C1 y C2: Control para DPPH sin extractos.
- M1e, M2e, M3e: Pruebas para extractos etanólicos al 70%.
- M1-Li, M2-Li, M3-Li: Pruebas para muestra liofilizada.

Anexo N°5

IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- **APARTADO POSTAL:**
N° 921 - Cusco - Perú
- **FAX:** 238156 - 238173 - 222812
- **RECTORADO:**
Calle Tigrú N° 127
Teléfono: 222271 - 224891 - 234181 - 254398
- **CIUDAD UNIVERSITARIA:**
Av. De la Cultura N° 735 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- **CENTRAL TELEFÓNICA:** 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- **LOCAL CENTRAL:**
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- **MUSEO INKA:**
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- **CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA:**
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfono: 277145 - 277246
- **COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"**
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 277192

HERBARIO VARGAS CUZ

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 012-2022-HVC-FC-UNSAAC

La Directora del Herbario Vargas CUZ, Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: los Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica **Oscar Benito Castro**, con código 161839 y **Daniela Tapia Maruri** con código 144238 con proyecto de investigación **"CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DE LA ESPECIE VEGETAL "SANTA MARÍA" DEL GÉNERO "PIPER" PERTENECIENTE A LA COMUNIDAD NATIVA SANTA ROSA DE HUACARIA, PAUCARTAMBO CUSCO"**, para la obtención de tesis de grado han presentado a la Dirección del Herbario Vargas CUZ, una (01) muestra botánica para su determinación taxonómica (expediente N° 450035), la que al ser diagnosticada por el Mgt. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del herbario, concuerdan con la siguiente especie; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE LOCAL
1	Piperaceae	<i>Piper peltatum</i> L.	"Santa María"

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

Cusco, 17 de agosto de 2022


Blga. María Luisa Ochoa Cámara
Directora del Herbario Vargas CUZ



Fuente: Herbario Vargas (2022)

Anexo N°6
ARCHIVO FOTOGRÁFICO

I. RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL EN LA COMUNIDAD NATIVA SANTA ROSA DE HUACARIA- KOSÑIPATA

Fotografía N°1: Vista de la Comunidad Nativa Santa Rosa de Huacaria



Fotografía N°2: Comunidad Santa Rosa de Huacaria



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

Fotografía N°3: Identificación de la zona para recoger la planta



Fotografía N°4: Identificación de la zona para recoger la planta



Fotografía N°5: Entrada de la Comunidad Nativa Santa Rosa de Huacaria.



Fotografía N°6: Recolección de la especie vegetal *Piper peltatum* L. Santa María.



II. MATERIALES USADOS EN LABORATORIO

Fotografía N°6: Estufa



Fotografía N°7: Micropipeta



Fotografía N°8: Balanza analítica



Fotografía N°9: Vortex



Fotografía N°10: Baño María



Fotografía N°11: Liofilizador L-101



Fotografía N°12: Desecador



Fotografía N°13: Rotavapor R-215



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

III. SECADO Y PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

Fotografía N°14: Preparación de la muestra para colocar en el liofilizador.



Fotografía N°15: Secado de la planta por liofilización



Fotografía N°16: Muestra liofilizada



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

Fotografía N°17: Preparación de la muestra vegetal para colocar en calor seco- estufa



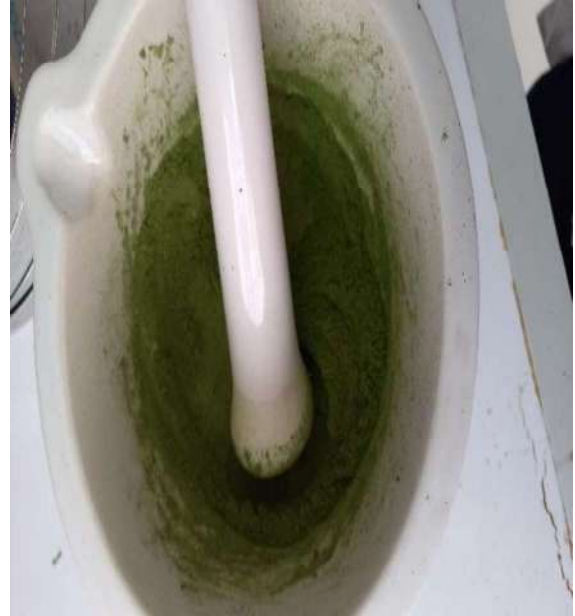
Fotografía N°18: Secado de la muestra vegetal mediante calor seco- estufa



Fotografía N°19: Muestra vegetal pulverizada proveniente de un secado mediante calor seco.



Fotografía N°20: Muestra vegetal pulverizada proveniente de un secado mediante liofilización.



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

Fotografía N°20: Muestra pulverizada y colocada en frasco hermético más el disolvente etanol 70%.



Fotografía N°21: Extractos etanólicos al 70 % protegidos de la luz en frascos herméticos.



Fotografía N°22: Filtrado de los extractos etanólicos al 70 %.



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

IV. PORCENTAJE DE HUMEDAD

Fotografía N°23: Muestra vegetal en el desecador.



Fotografía N°24: Determinación de porcentaje de humedad.



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

V. REACTIVOS USADOS

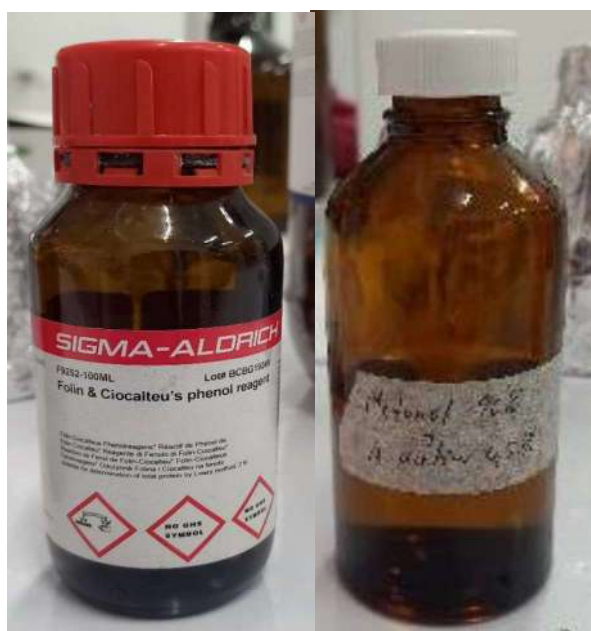
Fotografía N°25: Reactivos de análisis fitoquímico.



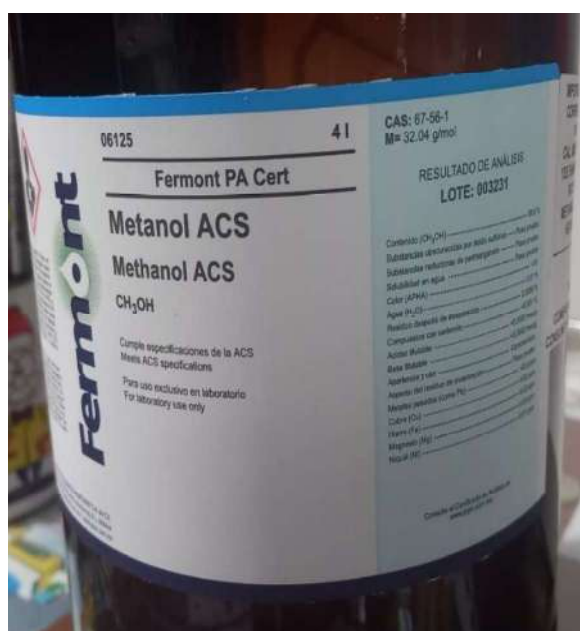
Fotografía N°26: Reactivos DPPH.



Fotografía N°27: Reactivos Folin ciocalteu.



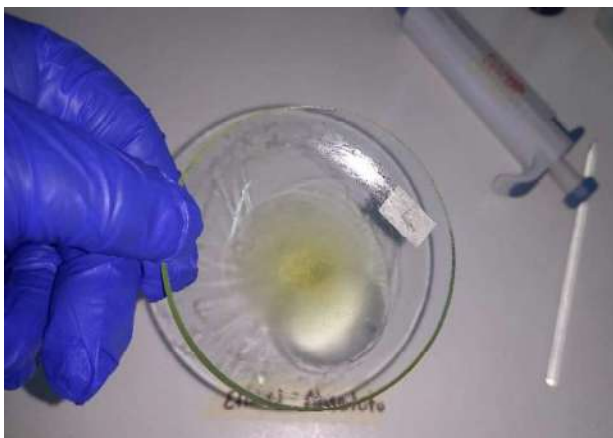
Fotografía N°28: Metanol.



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

VI. PRUEBA DE SOLUBILIDAD

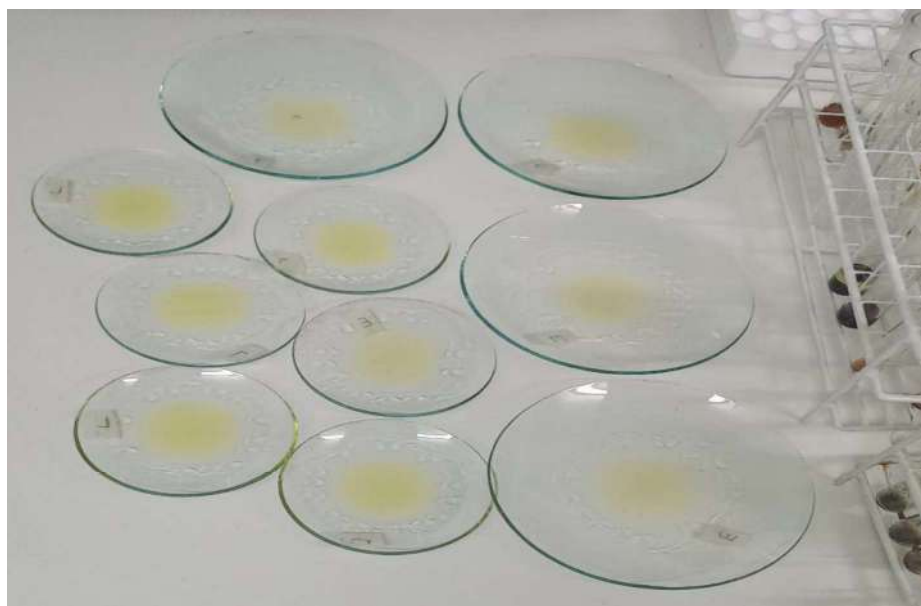
Fotografía N°29: Solubilidad en etanol absoluto.



Fotografía N°30: Solubilidad en etanol etanol 70%.



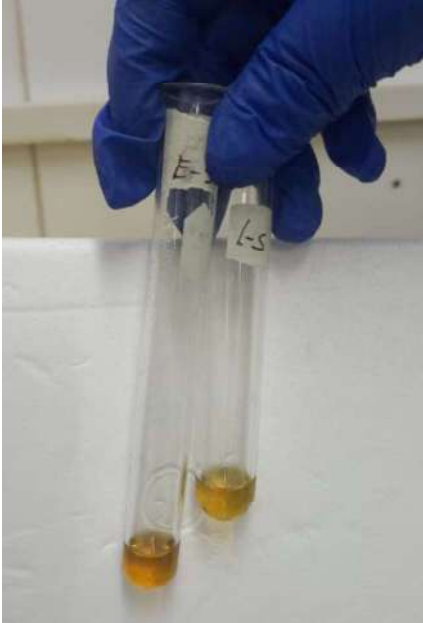
Fotografía N°31: Resultados de solubilidad.



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

VII. PRUEBAS PRELIMINARES

Fotografía N°32: Dragendorff.



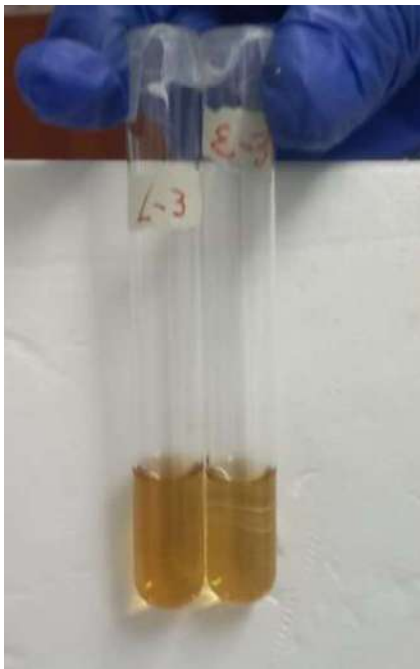
Fotografía N°33: Feling A y B.



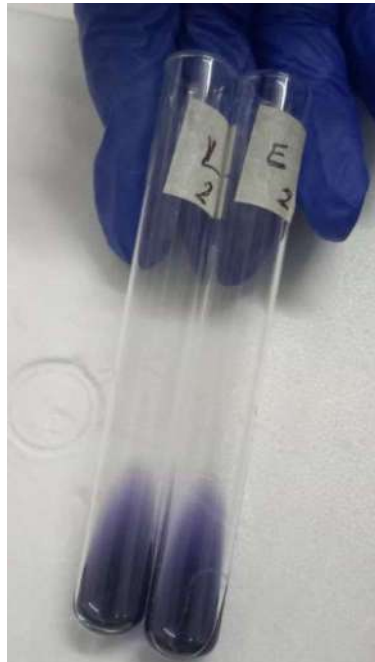
Fotografía N°34: Cloruro Férrico.



Fotografía N°35: Shinoda.



Fotografía N°36: Nihindrina.



Fotografía N°37: Saponinas.



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

VIII. PRUEBA DE FOLIN CIOCALTEU: RECUENTO DE POLIFENOLES

Fotografía N°38: Preparación del material.



Fotografía N°39: Preparación de los extractos.



Fotografía N°39: Preparación la solución madre.



Fotografía N°40: Muestras en baño maría.



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2022)

IX. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Fotografía N°41: Preparación de las muestras.



Fotografía N°42: Material para curva patrón trolox



Fotografía N°43: Muestras + reactivo DPPH.



Fotografía N°44: Curva patrón trolox.



Fuente: Daniela Tapia, Oscar Benito. (2023)

Anexo N°7

CÁLCULOS CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES: LIOFILIZADO

0.3016 g de materia seca liofilizada disueltos en 25 mL

Liofilizado:

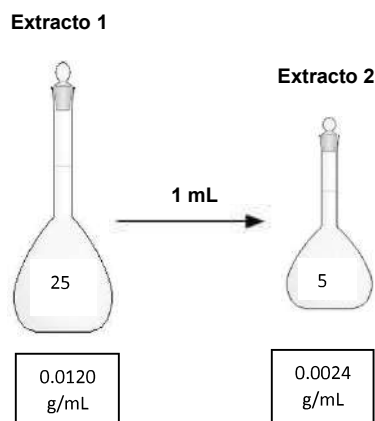
Abs = 0.903

Y = 0.0381x + 0.0031

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

$$x = \frac{0.903 - 0.0031}{0.0381}$$

X = 23.62 ug/mL eq-AG



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

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

X = 263.2 ug/mL eq-AG contenido en 5 mL de extracto (2)

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

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

X = 47.24 ug/mL eq-AG contenido en 1 mL de extracto (1)

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

X.....25 mL de extracto (1)

X = 1181 ug/mL eq-AG contenido en 25 mL de extracto (1)

1.181 x 10⁻⁶ g/ mL eq-AG0.3016 g en extracto seco (liofilizado)

X.....100 g de extracto seco (liofilizado)

X = 0.3915 g/mL contenido en 100 gramos de extracto seco (liofilizado)

Anexo N°8

CÁLCULOS CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES: CALOR SECO

0.3044 g de materia seca liofilizada disueltos en 25 mL

Calor seco:

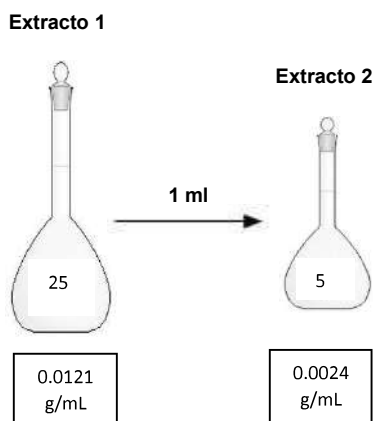
Abs = 0.851

$$Y = 0.0381x + 0.0031$$

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

$$x = \frac{0.851 - 0.0031}{0.0381}$$

X = 22.25 ug/mL eq-AG



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

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

X = 222.5 ug/mL eq-AG contenido en 5 mL de extracto (2)

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

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

X = 44.50 ug/mL eq-AG contenido en 1 mL de extracto (1)

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

X.....25 mL de extracto (1)

X = 1112.5 ug/mL eq-AG contenido en 25 mL de extracto (1)


11125×10^{-7} g/ mL eq-AG0.3044 g en extracto (calor seco)

X.....100 g de extracto (calor seco)

X = 0.3654 g/mL contenido en 100 gramos de extracto (calor seco)

Anexo N°9

CONDICIONES DEL HPLC

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO FACULTAD DE CIENCIAS LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855</p>
<h3>RESULTADOS</h3>	
<h4>Condiciones de Análisis por HPLC</h4>	
Cromatógrafo:	Agilent serie 1200
Software:	Chemstation V03.02
Columna:	Zorbax SB-Phenyl 4,6 x 75 mm, 3.5 µm
Pre Columna:	Zorbax Eclipse XDB-C18 4.6 x 12.5 mm x 5µm
Flujo de Columna:	0.600 ml/min.
Solvente A:	H ₃ PO ₄ 0.1%
Solvente B:	Acetonitrilo
Sistema de Análisis:	Inicio 0% de B, 10 min 20% de B, a 14 min 40% de B, a 18 min 50% de B, de 16 a 19 min 100% de B
Detección DAD:	285
Temperatura del Horno:	40.0°C
Tiempo de Análisis:	19 min.
Volumen de Inyección:	5 µl
 <h4>Bibliografía consultada</h4>	
<ul style="list-style-type: none">• Vrchotová, N & Sera, Bozena & Triska, Jan. (2007). The stilbene and catechin content of the spring sprouts of Reynoutria species. ACTA Chromatographica. 19.• Ivanescu, B., Vlase, L., Corciova, A., & Lazar, M. I. (2010). HPLC-DAD-MS study of polyphenols from Artemisia absinthium, A. annua, and A. vulgaris. Chemistry of Natural Compounds, 46(3), 468-470. https://doi.org/10.1007/s10600-010-9648-8	
	
<p>Quipico, Jorge Chequenaira Pari Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría – UNSAAC. CQP - 914</p>	

Condiciones para análisis de laboratorio de HPLC.

Anexo N°10

RESULTADOS DE HPLC DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS SECADOS MEDIANTE DOS MÉTODOS (LIOFILIZADO Y CALOR SECO)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA Y ESPECTROMETRÍA - Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERU Contacto: 97366655

RESULTADOS

Cusco, 05 de Octubre del 2023

Solicitante : Daniela Tapia Maruri y Oscar Benito Castro
 Tipo de Análisis : Perfil de Flavonoides
 Método : Cromatografía Líquida HPLC
 Tipo de Muestras : Extracto Etanólico 70% *Piper peltatum* L.
 Cantidad de Muestra : 2 frascos, liofilizado y estufa con 30mL aprox.
 Almacenamiento : -4 °C.

Extracto Etanólico 70% *Piper peltatum* L. (Liofilizado)

	TR	Equivalentes Rutina ug/ml de extracto
1	12.06	54.6
2	13.60	45.1
3	14.52	284.0
4	15.03	35.1
5	15.21	3.6
6	15.32	10.4
7	15.46	2.0
8	15.59	62.3
9	15.85	9.7

Extracto Etanólico 70% *Piper peltatum* L. (Estufa)

Código	TR	Equivalentes Rutina ug/ml de extracto
1	12.07	49.4
2	13.61	48.6
3	14.54	262.2
4	15.04	33.6
5	15.22	3.4
6	15.33	9.6
7	15.47	1.8
8	15.59	61.2
9	15.86	9.5

Nota: Los resultados obtenidos expresa los microgramos de flavonoides expresado en Rutina por ml de muestra mediante una tabla de calibración, la identificación de los flavonoides se realizó por comparación de los espectros UV de los estándares de Flavonoides (Rutina, Quercetina, Kaempferol, Quercetina 3 glucosido) frente a las señales de la muestra.

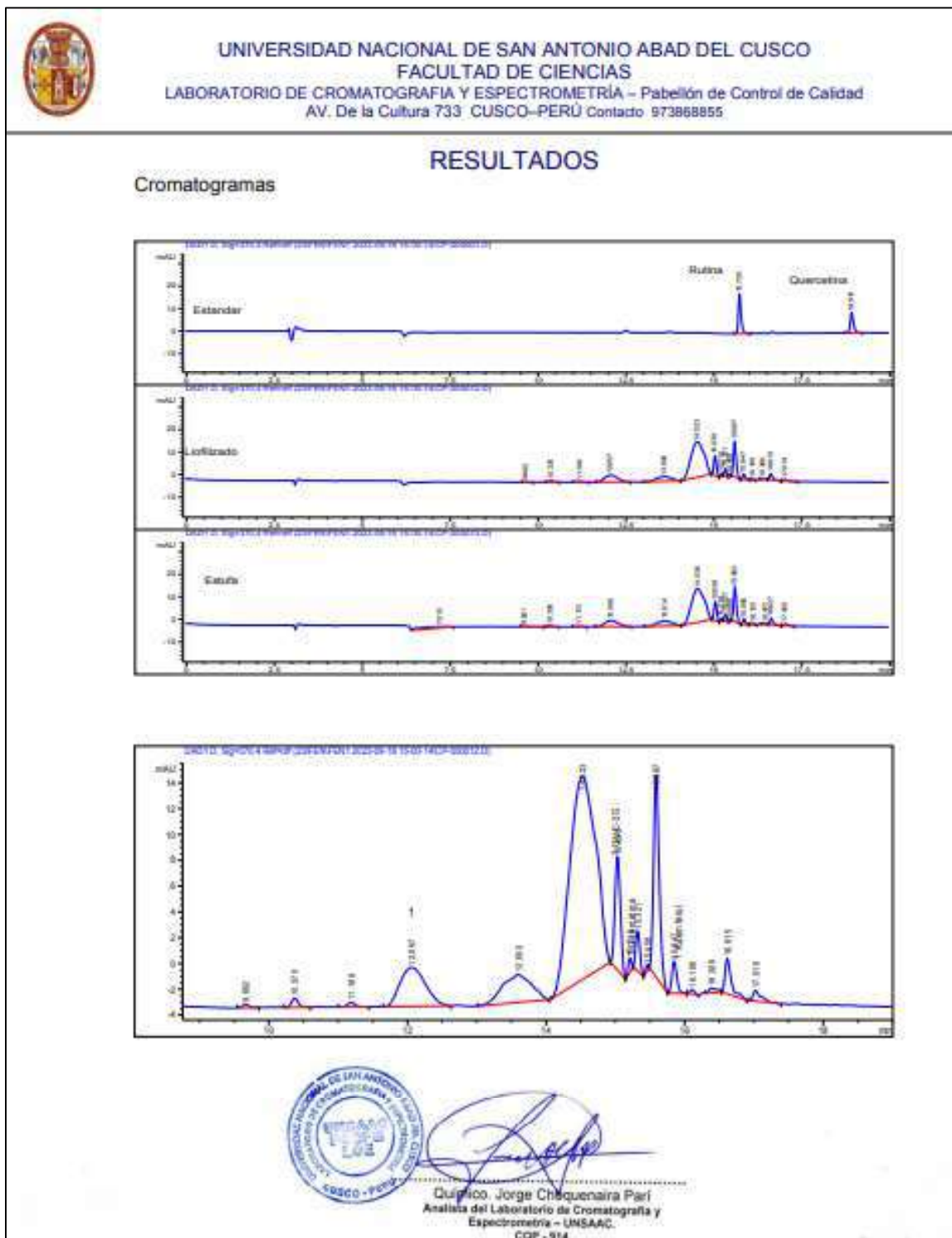


Quilico Jorge Chiguansira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNAAAC
GGP - 014

Tablas de resultados obtenidos en la determinación de compuestos en equivalentes de Rutina, así como las condiciones que se entregaron las muestras para su análisis.

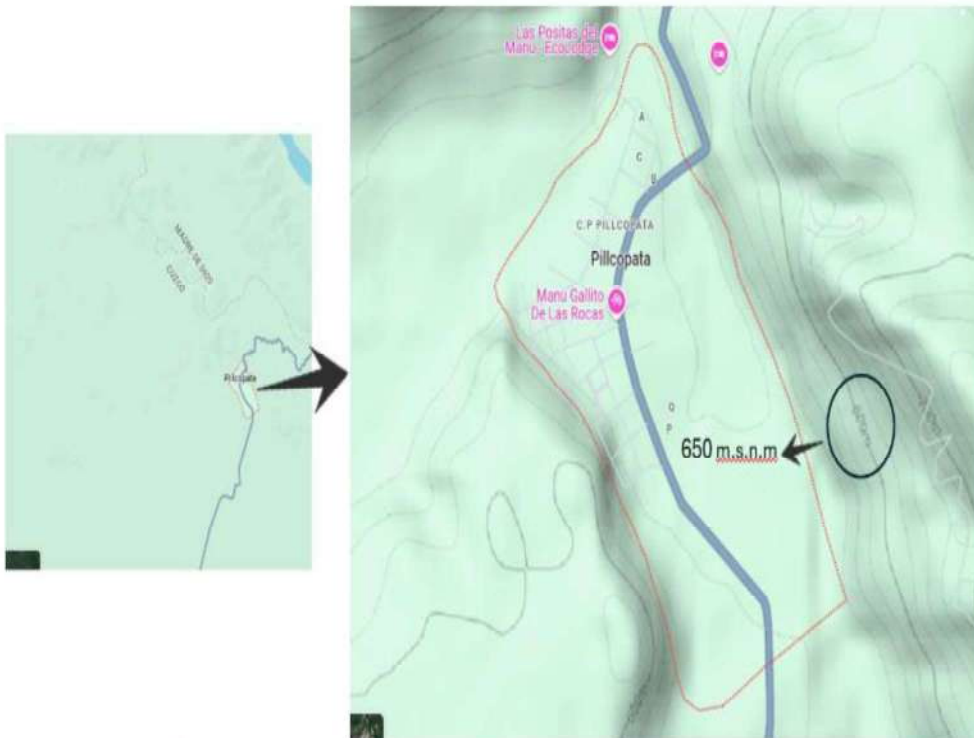
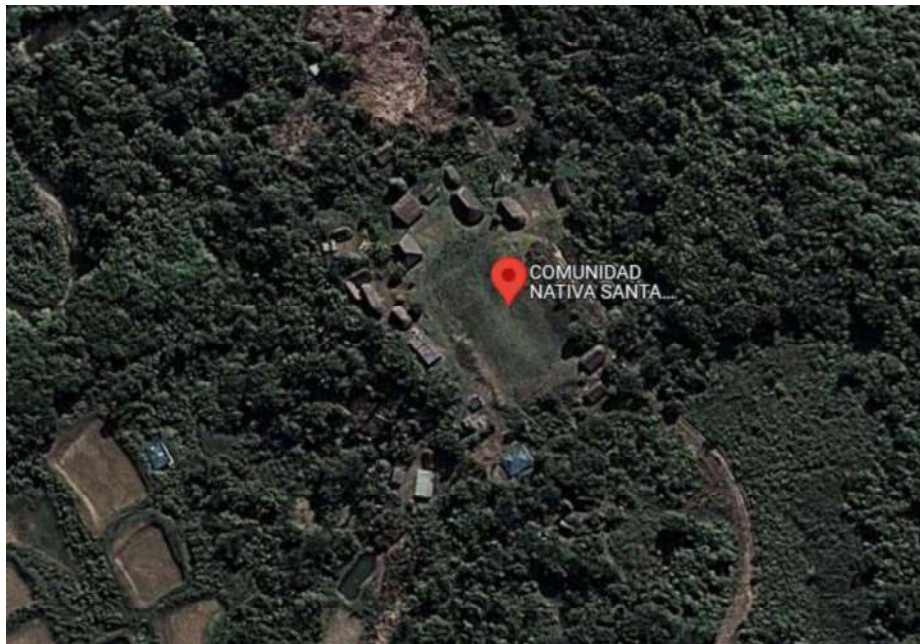
Anexo N°11

CROMATOGRAMAS DEL ESTÁNDAR Y DE MUESTRAS REALIZADAS, ASÍ COMO LOS PICOS DETERMINADOS PARA VER SU TIEMPO DE RETENCIÓN.



Anexo N°12

UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA COMUNIDAD NATIVA SANTA ROSA DE HUACARIA



Fuente:

<https://www.google.com/maps/place/COMUNIDAD+NATIVA+SANTA+ROSA+DE+HUACARIA12>
(2024)