



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO
DE POLIFENOLES EN *Peperomia inaequalifolia*
(Congona)**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR
EL GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

Autor:

Lara Guzman Kristel Alexandra

Asesor:

Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar

Chimbote - Perú
2018

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
CONTENIDO DE POLIFENOLES EN
Peperomia inaequalifolia (Congona)**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Lara Guzmán, Kristel Alexandra

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

Zevallos Escobar, Liz Elva

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

JURADO

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Mgtr. Walter Teodoro Ramírez Romero

Mgtr. Édison Vásquez Corrales

Hoja de firma de jurado y asesor

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Walter Teodoro Ramírez Romero

Miembro

Mgtr. Édison Vásquez Corrales

Miembro

Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar

Asesor

Agradecimientos

Agradezco en primer lugar a Dios por estar siempre a mi lado y por guiarme a lo largo de mi carrera, por escucharme en mis momentos de debilidad también por brindarme una vida llena de aprendizaje, experiencias y sobre todo felicidad.

Agradezco a mis padres por inculcarme valores que me formaron como persona y que me fortalecerán también como profesional, agradezco también a mi familia por brindar su apoyo desde el principio.

Agradezco a mis profesores por compartir sus conocimientos con dedicación y paciencia. Por brindar su apoyo ante cualquier duda académica sin dañar su ética profesional.

Y por último, pero no menos importante doy gracias a mis compañeros por demostrar que existe liderazgo y trabajo en equipo a pesar de cualquier inconveniente que se presenta en las actividades académicas.

Dedicatoria

Dedico esta tesis a Dios, por no permitirme decaer en los momentos difíciles, a mis padres por brindarme su gran apoyo emocional desde siempre y tener fe en mis metas y proyectos.

A mis profesores por apoyarme con sus conocimientos en el transcurso de la ejecución de mi proyecto, teniendo la esperanza como siempre en nosotros.

A cada estudiante que se encuentra en plena formación académica, que no desista deteniéndose a mitad de llegar a la meta.

Resumen

Una capacidad antioxidante es posible por la presencia de diferentes elementos en la especie tales como vitaminas, carotenoides y polifenoles. Esta investigación tiene como objetivo la cuantificación de polifenoles y la determinación de la capacidad antioxidante de *Peperomia Inaequalifolia* en el tallo y hojas, en diferentes preparados. Una vez recolectada la especie se separan tanto hojas como los tallos, se someten a un proceso de fragmentación por separado de cada parte, con ayuda de la estufa se obtiene la muestra seca pulverizada de cada parte por separado, se realizó una extracción exhaustiva de muestra seca y a partir de la muestra fresca se preparó infusión, decocción y una maceración acuosa. Una vez obtenidas las muestras usando el modelo de Folin –Ciocalteu, se cuantificaron los polifenoles presentes, la capacidad antioxidante se realizó por método DPPH. En el preparado de la extracción exhaustiva metanólica de la muestra seca del tallo, el contenido fue **(22.85 ± 1.02 mg de catequina eq /gr de muestra seca)**. En cuanto a la actividad antioxidante en la extracción exhaustiva de muestra seca de hojas la concentración fue **(399.23 ± 9.15 mM Trolox eq. /g de muestra seca)** por lo tanto se obtuvo una capacidad antioxidante al inhibir radicales libres. Se concluye que la especie *Peperomia inaequalifolia* posee cantidades de polifenoles y una capacidad antioxidante en tallos y hojas a partir de muestra seca y fresca.

Palabras claves: *Peperomia Inaequalifolia*, Capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y DPPH.

Abstract

An antioxidant capacity is possible due to the presence of different elements in the species such as vitamins, carotenoids and polyphenols. This research has as objective the quantification of polyphenols and the determination of the antioxidant capacity of *Peperomia Inaequalifolia* in the stem and leaves, in different preparations. Once the species is collected, both leaves and stems are separated, they undergo a fragmentation process separately. From each part, with the help of the stove, the dry powder sample of each part is obtained separately, an exhaustive extraction of dry sample was carried out and from the fresh sample an infusion, decoction and an aqueous maceration was prepared. Once the samples were obtained using the Folin-Ciocalteu model, the polyphenols present were quantified, the antioxidant capacity was performed by DPPH method. In the preparation of the exhaustive methanolic extraction of the dry sample of the stem, the content was $(22.85 \pm 1.02 \text{ mg of catechin eq / gr of dry sample})$. Regarding the antioxidant activity in the exhaustive extraction of dry sample of leaves the concentration was $(399.23 \pm 9.15 \text{ mM Trolox eq. / G dry sample})$ therefore an antioxidant capacity was obtained by inhibiting free radicals. It is concluded that the species *Peperomia inaequalifolia* possesses quantities of polyphenols and an antioxidant capacity in stems and leaves from dry and fresh sample.

Key words: *Peperomia Inaequalifolia*, Antioxidant capacity, polyphenols content and DPPH.

Índice

| | |
|--|------|
| EQUIPO DE TRABAJO | iii |
| HOJA DE FIRMA DE JURADO Y ASESOR | iv |
| AGRADECIMIENTO | v |
| DEDICATORIA..... | vi |
| RESUMEN | vii |
| ABSTRACT..... | viii |
| I. INTRODUCCION..... | 1 |
| Objetivo general..... | 5 |
| Objetivos específicos..... | 5 |
| II. REVISION DE LA LITERATURA..... | 6 |
| 2.1. Antecedentes..... | 6 |
| 2.2. Bases teóricas de la investigación..... | 11 |
| 2.2.1 <i>Peperomia inaequalifolia</i> | 11 |
| 2.2.1.1 Taxonomía..... | 11 |
| 2.2.1.2 Descripción de la especie <i>Peperomia inaequalifolia</i> | 11 |
| 2.2.1.3 Usos..... | 12 |
| 2.2.2 Compuestos poli fenólicos..... | 12 |
| 2.2.2.1 Definición..... | 12 |
| 2.2.2.2 Beneficios de dieta rica en polifenoles..... | 13 |
| 2.2.3 Radicales Libres..... | 14 |
| 2.2.3.1. ¿Qué son?..... | 14 |
| 2.2.3.2 Mecanismos de formación de radicales libres..... | 15 |
| 2.2.3.3 Estrés Oxidativo..... | 15 |
| 2.2.3.4 Formación de un radical libre..... | 16 |
| 2.2.3.5 Enfermedades, procesos degenerativos por estrés oxidativo..... | 18 |

| | |
|---|----|
| 2.2.3.5.1. El envejecimiento..... | 18 |
| 2.2.3.5.2. La aterosclerosis..... | 18 |
| 2.2.3.5.3. Cáncer..... | 19 |
| 2.2.3.5.4. La catarata senil..... | 19 |
| 2.2.3.5.5. Insuficiencia renal aguda (IRA) , crónica (IRC) y diálisis..... | 20 |
| 2.2.4. Antioxidantes..... | 21 |
| 2.2.4.1 Reacción de antioxidantes frente a radicales libres..... | 21 |
| 2.2.5. Método Foling -cicalteu..... | 23 |
| 2.2.6. DPPH..... | 24 |
| III. HIPOTESIS..... | 24 |
| IV. METODOLOGIA..... | 25 |
| 4.1. Diseño de la investigación..... | 25 |
| 4.2. Obtención de la droga vegetal..... | 25 |
| 4.2.1 Obtención de las preparaciones | 25 |
| 4.2.1.1 Extracción exhaustiva..... | 25 |
| 4.2.1.2 Decocción..... | 26 |
| 4.2.1.3 Infusión..... | 26 |
| 4.2.1.4 Maceración acuosa..... | 26 |
| 4.2.2 Determinación de polifenoles totales | 26 |
| 4.2.2.1 Método de Folin – Ciocalteu..... | 26 |
| 4.2.3 Determinación de capacidad antioxidante | 27 |
| 4.2.3.1 Preparación del DPPH..... | 27 |
| 4.2.3.2 Determinación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH | 27 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.3 | Población y muestra..... | 28 |
| 4.3.1 | Población vegetal..... | 28 |
| 4.3.2 | Muestra vegetal..... | 28 |
| 4.4 | Definición y operacionalización de variables..... | 28 |
| 4.5 | Técnicas e instrumentos de recolección de datos..... | 29 |
| 4.6 | Plan de análisis..... | 29 |
| 4.7 | Matriz de consistencia..... | 30 |
| 4.8 | Principios éticos..... | 31 |
| V. | RESULTADOS..... | 32 |
| 5.1. | Resultados..... | 32 |
| 5.2. | Análisis de Resultados..... | 34 |
| VI. | CONCLUSIONES..... | 39 |
| | Referencias bibliográficas..... | 40 |
| | ANEXO 1..... | 53 |
| | ANEXO 2..... | 54 |
| | ANEXO 3..... | 55 |
| | ANEXO 4..... | 56 |

Índice de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1: Contenido de polifenoles totales expresados en mg de catequina equivalentes a gramo de muestra, según parte de la especie y tipo de extracto en <i>Peperomia inaequalifolia</i> | 32 |
| Tabla 2: Capacidad antioxidante expresada en mM trolox equivalente a gramo de muestra, según parte de la especie vegetal y tipo de extracto en <i>Peperomia inaequalifolia</i> | 33 |

I. INTRODUCCION

El uso de plantas medicinales se ha convertido en uno de los métodos más usados para tratamientos de enfermedades y prevención, puesto que estas especies vegetales poseen sustancias capaces de hacer un efecto farmacológico que sintetizan naturalmente sustancias que son útiles para la salud de las personas. En el Perú se han usado desde tiempos memorables las plantas como primer tratamiento sintomático de alguna enfermedad, transmitiendo este conocimiento de generación en generación. En el Perú se posee una amplia variedad de plantas medicinales, capaces de mitigar enfermedades. Estas especies se encuentran a nuestro alcance, por ello las personas optan por tratarse con plantas medicinales comprobando a si su eficacia.¹

Gracias a los estudios de las actividades farmacológicas de las especies vegetales, se pueden obtener drogas a partir de plantas medicinales. En la actualidad el uso de la especie vegetal *Peperomia inaequalifolia* , conocida vulgarmente como “congona” ,Se usa frecuentemente para atenuar el dolor e inflamación de los oídos, a si como afectaciones al corazón , también se ha comprobado la actividad cicatrizante de su aceite esencial.²

Los compuestos fenólicos son suma importancia tanto en las personas como en las mismas plantas ya que , estos cumplen funciones importantes en la especie vegetales, está comprobado que los flavonoides son importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas al protegerlas contra agentes agresores externos, como la radiación UV, microorganismos, animales herbívoros y del medio ambiente.

Los compuestos fenólicos poseen una estructura química especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captadores de radicales libres neutralizando peligrosas especies reactivas de oxígeno e iones metálicos quelantes.³

Es de suma importancia sustancias con esta capacidad ya que el estrés oxidativo está relacionado con enfermedades como la diabetes y cáncer, demostrar esta capacidad en una especie vegetal que está al alcance de todas las personas sería muy beneficioso.

Los agentes antioxidantes o sustancias antioxidantes actúan inhibiendo radicales libres de oxígeno, estos se pueden producir naturalmente en nuestro organismo a través de procesos metabólicos oxidativos, muchas veces es extremadamente útil como por ejemplo en situaciones donde se activa el sistema inmune, los macrófagos usan peróxido de hidrógeno (radical libre) para destruir bacterias y otros elementos extraños en la desintoxicación de drogas y también en la producción de endotelio derivado del factor relajante, el óxido nítrico, extremadamente importante en los procesos que desencadenan la relajación de los vasos sanguíneos.⁴

Uno puede decir que un organismo se encuentra bajo estrés oxidativo cuando existe un desequilibrio entre el sistema antioxidante y pro-oxidante ocurre de tal manera que prevalezca el sistema pro-oxidante. Uno de los principales mecanismos de lesión es la lipoperoxidación (LPO), en otras palabras, la oxidación de la capa lipídica de la membrana celular. Junto al EO puede generar daño a las proteínas y al ADN, causando varias alteraciones en la función celular y, en consecuencia, en el tejido.⁴

Para proteger las células y los sistemas de órganos del cuerpo contra reactivas especies de oxígeno, los humanos han evolucionado de una manera altamente

sofisticada y complejo sistema de protección antioxidante. Implica una variedad de componentes, tanto de origen endógeno como exógeno, que funcionan de forma interactiva y sinérgica para neutralizar los radicales libres.⁵

La vitamina C, la vitamina E y el betacaroteno son los antioxidantes de la dieta más ampliamente estudiados. La vitamina C es considerada el más importante antioxidante soluble en agua en fluidos extracelulares. Es capaz de neutralizar radicales libres de oxígeno en la fase acuosa antes de que la peroxidación de lípidos inicie. La vitamina E, otro importante antioxidante muy soluble en lípidos, es el rompedor de cadenas más eficaz dentro de la membrana celular donde protege los ácidos grasos de membrana de la peroxidación de lípidos. La vitamina C es capaz de regenerar la vitamina E.⁵

Existen varias otras sustancias antioxidantes dietéticas más allá de las vitaminas tradicionales discutidas arriba. Muchas sustancias derivadas de plantas, denominados colectivamente "fitonutrientes" o "fitoquímicos", cada vez más conocidos por su actividad antioxidante. Los compuestos fenólicos tales como flavonoides son ubicuos dentro del reino vegetal: aproximadamente 3.000 sustancias flavonoides han sido descritas. En las plantas, los flavonoides sirven como protectores contra una amplia variedad de tensiones ambientales mientras que, en humanos, los flavonoides parecen funcionar como "modificadores de respuesta biológica".^{5,6}

Se ha demostrado que los flavonoides tienen propiedades antiinflamatorias, antialérgicas, actividad antiviral, antienvjecimiento y anticancerígena.

Los amplios efectos terapéuticos de los flavonoides se pueden atribuir en gran medida a sus propiedades antioxidantes. Además de un efecto antioxidante, los flavonoides pueden ejercer protección contra la enfermedad cardíaca a través de la inhibición de las actividades de la ciclooxigenasa y la lipoxigenasa en las plaquetas y macrófagos.⁶

Los antioxidantes ejercen sus efectos a través de varios mecanismos básicos, que incluyen: eliminar las especies que inician la peroxidación, apagar el oxígeno singlete, quelar los metales, romper las reacciones de la cadena de radicales libres y reducir la concentración de O₂. Las moléculas antioxidantes no son igualmente poderosas en reaccionar de acuerdo a estos variados mecanismos. Por ejemplo, los ácidos fenólicos son efectivos para atrapar radicales libres, pero no tan buenos para quelar metales, mientras que los flavonoides pueden hacer ambas cosas de manera eficiente: eliminan los radicales libres y quelar metales.⁷

La adición de antioxidantes sintéticos a aceites y / o alimentos es una de las maneras más eficientes de prevenir la oxidación de lípidos. Sin embargo, la seguridad de los aditivos sintéticos ha sido cuestionada, estimulando la evaluación de compuestos naturales con propiedades antioxidantes. Aunque no hay garantía de la seguridad de los antioxidantes naturales, hay algo de comodidad sabiendo que tales antioxidantes se purifican de productos naturales que se han consumido por generaciones. Los compuestos fenólicos en las plantas se reconocen como compuestos importantes para conferir estabilidad frente a la oxidación. De esta manera, los extractos de plantas aromáticas (Como *Peperomia inaequalifolia*), aceites esenciales y sus componentes

están ganando interés por su relativa seguridad y amplia aceptación por parte de los consumidores.^{8,9}

En la actualidad las distintas enfermedades o malestares que presenta la población ha conllevado a búsqueda de métodos naturales tales como el consumo de plantas medicinales, es por ello que se determinará la capacidad antioxidante de *Peperomia inaequalifolia* y la cuantificación de polifenoles presentes en la especie, para los cuales se obtendrá la muestra de la extracción metanólica de la especie así como muestra de su decocción, infusión y maceración acuosa.

Objetivo general:

Determinar la capacidad antioxidante y cuantificar los compuestos polifenólicos presentes en tallo y hojas de *Peperomia inaequalifolia*.

Objetivos específicos:

- Cuantificar los polifenoles presentes en tallos y hojas de *Peperomia inaequalifolia* mediante el método Folin – Ciocalteu. expresados en mg catequina eq/g muestra seca o fresca

- Determinar la capacidad antioxidante en tallos y hojas de *Peperomia inaequalifolia* por el método DPPH expresados en mM Trolox eq./g muestra seca o fresca

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Estudios internacionales a la *Peperomia inaequalifolia* y familia

Ecuador

En Quito en el año 2012, Carvajal y Quintero¹⁰ realizaron una tesis con la Caracterización fitoquímica de *Peperomia inaequalifolia*, con el fin de hallar una actividad antimicrobiana y antimicótica del aceite esencial de congona, en la cual se extrajo el aceite esencial de la planta por el método de hidrodestilación, el rendimiento con planta fresca fue 0,116%. El aceite permitió evaluar propiedades físico-químicas como : índices de acidez, refracción y peso específico , finalmente se estudió la actividad biológica del aceite esencial frente a cuatro bacterias y una levadura autóctonas en la cual se demostró actividad antibacteriana frente a bacterias gram positiva y antimicótica frente a *C. albicans*, Por el contrario el aceite no presentó actividad antibacteriana frente a bacterias gram negativas, aprobándose hipótesis nula.

Bangladés (Este de India)

En el 2008 Alam *et al*¹¹ realizaron un estudio de Actividad antipirética de *Peperomia pellucida* Hojas ,en conejo. En la cual Se administró por vía intraperitoneal de leche hervida a una dosis de 0,5 ml / kg de cuerpo por peso en conejo albino que conduce a pirexia. Se administró el extracto de etanol de las hojas de *P. pellucida* a una dosis de 80 mg / kg de peso corporal lo cual redujo significativamente la temperatura elevada. Este efecto

antipirético ha sido comparado con el efecto antipirético de la aspirina estándar y el disolvente que se ha usado.

Malasia

En 2016 Lee *et al* ¹² realizaron un estudio del efecto inmunoestimulador de *Peperomia pellucida* en pescado .El extracto de la planta fue para su compuesto activo usando un espectrómetro de masas de cromatografía de gases, y la eficacia de *P. pellucida*, como agente inmunoestimulador. Los peces fueron alimentados con alimento medicado a tres Diferentes concentraciones de *P. pellucida* .Durante una semana antes de que estuvieran expuestos a *A. hydrophila*. El ensayo inmunoabsorbente fue para determinar el valor de la respuesta de anticuerpos a *A. hydrophila* .Se determinó a un grupo de peces que recibió el alimento medicado el porcentaje de mortalidad acumulada total.Se demostró el enorme potencial del extracto de hojas de *P. Pellucida* como inmunoestimulador en el control de motilidad septicemia motil debido a *A. hydrophila*.

Estudios nacionales a la *Peperomia inaequalifolia* y familia

Juliaca-Peru

En el 2015 en la Universidad Andina Néstor Cáceres Velasquez ,Ugarte y Mercado ¹³ realizaron el estudio de la Valoración Cicatrizante Del Extracto De Congona en Herida Traumática En Ratas Wistar. Evaluación Histológica, induciendo una herida postquirúrgica y esperar a su futura cicatrización, pero se determinó que la especie congona *Peperomia Ruiz & Pav*, (familia de *Peperomia inaequalifolia*) no posee un efecto cicatrizante

sobre heridas postquirúrgicas en las ratas, pero si posee un efecto antiinflamatorio como se había deducido.

Trujillo -Peru

En 2015 Castro y Estupiñá¹⁴ realizaron un estudio del efecto sobre íleon aislado de *Cavia porcellus* ,del aceite esencial de *Peperomia dolabriformis* kunth (familia) ,la obtención del aceite fue por medio de una destilación por arrastre de vapor.Se extrajo 3cm de íleon que se colocó en el equipo de órgano aislado ,luego fue expuesto a acetilcolina ,se aplicó el aceite esencial en diferentes porcentajes de *Peperomia dolabriformis* ,tambien N-butilbromuro hioscina secuencialmente cada 10 minutos . El aceite esencial de las hojas de *Peperomia dolabriformis Kunth* genero un efecto similar a la N-Butil bromuro de Hioscina con respecto a la frecuencia de contracción con acetilcolina. En conclusión se observó que generó mejor efecto que N-butilbromuro de hioscina sobre la motilidad respecto a amplitud de contracción con acetilcolina en íleon aislado de *Cavia porcellus*.

Estudios internacionales a la *Peperomia inaequalifolia* y familia sobre capacidad antioxidante

Ecuador

Aillon realizó un estudio en Quito en el 2014¹⁵, sobre el efecto antioxidante en el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*, el cual de obtuvo por hidrodestilación se caracterizó su composición química, por medio de una cromatografía de gases acoplada a masa (CG-MS) la cual mostró que su aceite contiene safrol, estearil palmitato y miristicina

dentro de los compuestos más abundantes. También se realizó cromatografía en capa fina (TLC) la cual confirmó la actividad antioxidante del aceite al existir una decoloración del reactivo DPPH de violeta a amarillo. Por ello el aceite de *Peperomia inaequalifoliasi* posee una significativa actividad Antioxidante.

Ecuador

Noriega P.*et al.* en 2016 ¹⁶Realizaron un estudio sobre la Composición Química, Actividad Antioxidante Y Antimicrobiana Del Aceite Esencial Proveniente De La Hojas De *Piper Pubinervulum C. Dc Piperaceae* en la cual la Actividad antioxidante del aceite fue evaluada por los métodos DPPH, ABTS y la fotoquimioluminiscencia (PCL). La actividad antimicrobiana fue evaluada por el método de difusión de disco en dos bacterias Gram+, dos bacterias Gram- y dos levaduras. Los resultados más interesantes se producen con las dos levaduras *Candida tropicalis* y *Candida albicans* donde la actividad fue similar al aceite esencial de *Thymus vulgaris* el estándar natural de referencia. Los buenos resultados con respecto a la actividad antifúngica nos llevan a concluir que el aceite esencial podría ser usado con esta finalidad.

Malasia

Seong Wei L.*et al.*¹⁷ realizaron un estudio sobre la Caracterización de propiedades anticancerígenas, antimicrobianas, antioxidantes y composiciones químicas del extracto de la hoja de *Peperomia pellucida* en la cual la capacidad antioxidante se caracterizó utilizando el método DPPH y las composiciones químicas fueron seleccionadas e identificado por

cromatografía de gases-espectrometría de masas . La absorbancia de la muestra fue Grabado con el lector ELISA en intervalos de 6 s. El porcentaje de inhibición del radical DPPH fue calculado en base a la absorbancia. Extracto de hoja de *Peperomia pellucida* barrido DPPH tuvo una inhibición del 30% a una concentración de 0.625 ppt. Doser, la respuesta en relación se observó que el porcentaje de inhibición aumentó ligeramente la concentración de extracto vegetal.

Mun'im A.*et al*¹⁸ realizaron un estudio sobre la optimización de la extracción asistida por microondas de compuestos activos, Actividad antioxidante y enzima convertidora de angiotensina Actividad inhibitoria (ECA) de *Peperomia pellucida* (L.) Kunth en la que la determinación de compuestos fenólicos totales se realizó mediante el método espectrofotométrico se utilizó el reactivo de Folin-Ciocalteu con una ligera modificación, y los resultados se expresaron en mg de ácido gálico equivalentes por g del extracto (mg de GAE / g de extracto) . El resultado del estudio indicado que no hubo correlación significativa entre los compuestos fenólicos totales y el inhibidor de la ECA. Además, no hubo significativos correlación entre compuestos polifenolicos totales y actividad de captación.

Colombia

Correa Y.*et al*¹⁹ realizaron un estudio en 2015 basado en la Actividad antioxidante y antifúngica de piperaceas de la flora colombiana ,el material vegetal (tallos y hojas) se secó, se molió y después se extrajo por percolación

con n-hexanos, diclorometano y metanol. Las soluciones obtenidas se concentraron a presión reducida y con los extractos crudos se evaluaron las actividades antioxidantes mediante el procedimiento del difenilpicrilhidrazilo; las especies *Piper eripodon* y *Piper crassinervium*, presentaron la mejor actividad antioxidante, sugieren que *Piper eripodon* presenta propiedades tanto antioxidante como antifúngica; por lo cual, tiene un alto potencial como fuente de compuestos bioactivos que podrían ser usados como alternativas terapéuticas o industriales.

2.2. Bases teóricas de la investigación

2.2.1 *Peperomia inaequalifolia*

2.2.1.1 Taxonomía

| | |
|--------------------------|---------------------------------|
| Nombre Científico | <i>Peperomia inaequalifolia</i> |
| Nombre Vulgar | Congona |
| Genero | Peperomia |
| Especie | P. inaequalifolia Ruiz y Pav. |
| Familia | Piperaceae |
| Clase | Dicotyledoneae |
| Subclase | Archishlamydeae |
| Orden | Piperales |
| División | Angiospermae |

2.2.1.2 Descripción de la especie *Peperomia inaequalifolia*

Ubicación geográfica: Esta especie es oriunda de Suramérica sobre todo en los países como Perú y Ecuador.

Distribución: Esta especie se cultiva en cualquiera región del Perú, con suelo en ambientes sombríos, boscosos, muy húmedos, Cálido a

frío .Grietas de rocas, entre las plantas tropical también se ha encontrado esta especie en las alturas como Huaraz, sin embargo, su familia con el caso de *Peperomia pellucida* es de origen oriental.²⁰

2.2.1.3 Usos

Se usan las hojas el modo se empleo es triturarlas y refieren que son cicatrizantes tópicos y también se usan como dentífrico y para tratar la gingivitis. La infusión de las hojas se usa como tranquilizante y analgésica para los dolores de cabeza. Las hojas se mezclan con el alimento de los animales para apacentarlos. A las hojas asadas al fuego se les extrae el contenido por presión y se aplica en gotas contra la otitis y conjuntivitis ocular.²¹

2.2.2 Compuestos poli fenólicos

2.2.2.1 Definición

Los compuestos polis fenólicos son sustancias producidas naturalmente por plantas, esto ocurre normalmente como defensa contra herbívoros y varias tensiones en general. En los países occidentales, la ingesta de polifenoles ocurre en mayor consumo en personas que siguen una dieta vegetariana. Las fuentes de alimentos que son especialmente ricos en polifenoles incluyen papas, ciruelas, verduras de hoja, productos de granos enteros y café. ²²

Igual que los ácidos fenólicos, los flavonoides son metabolitos secundarios de las las especies vegetales que poseen una estructura poli fenólica, por lo que los flavonoides provenientes de compuestos poli fenólicos tienen baja

toxicidad en los mamíferos y están ampliamente distribuidos en el reino vegetal.²²

Las principales fuentes dietéticas de flavonoides en forma de flavonoles, flavonas, isoflavonas, flavononas pueden estar presente en té, vino tinto, manzana, tomate, cereza, cebolla, tomillo, perejil, habas de soja y otras legumbres, fruta de uva, naranja, limón, ginkgo y neem. Los flavonoides se han usado ampliamente desde hace siglos para el tratamiento de diversas enfermedades.²¹ Las enfermedades cardiovasculares son hoy la principal causa de muerte tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados. Las enfermedades cardiovasculares incluyen aterosclerosis, cardiopatía coronaria, hipertensión arterial e insuficiencia cardíaca. La razón principal detrás de las enfermedades CVS es el estrés oxidativo y por lo tanto con la ayuda de antioxidantes disminuye el estrés oxidativo.^{22,23}

En general, se acepta que la mayoría de, si no todos, los efectos beneficiosos para la salud de los flavonoides se atribuyen a sus capacidades antioxidantes y quelantes.

2.2.2.2 Beneficios de dieta rica en polifenoles

Estudios epidemiológicos han mostrado en muchas oportunidades una asociación inversa entre el riesgo de enfermedades humanas crónicas y el consumo de la dieta rica en polifenoles. Los polifenoles pueden aceptar un electrón para formar fenoxilo relativamente estable. Está bien establecido que los alimentos y bebidas pueden aumentar la capacidad antioxidante del plasma. Este aumento en la capacidad a ricos en polifenoles puede

aumentar la capacidad antioxidante del plasma. El consumo de alimentos ricos en polifenol puede explicarse ya sea por la presencia de polifenoles reductores y sus metabolitos en plasma, por sus efectos sobre concentraciones de otros agentes reductores o por su efecto sobre la absorción pro-oxidativa por componentes de los alimentos, como el hierro.²⁵

El consumo de antioxidantes. Se ha asociado con niveles reducidos de daño oxidativo a ADN linfocítico. Cada vez hay más evidencias de que los antioxidantes, los polifenoles pueden proteger los constituyentes celulares contra el daño oxidativo y, por tanto, limitan el riesgo de diversas enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo.²⁵

2.2.3 Radicales Libres

2.2.3.1. ¿Qué son?

Los radicales libres se producen generalmente en la célula a través de reacciones de transferencia de electrones, con o sin participación enzimática, pero mediada por iones metálicos de transición; tal es el caso del radical $\bullet\text{OH}$ que es generado siempre que el H_2O_2 entra en contacto con iones cobre (Cu^{+2}) o iones hierro (Fe^{+2}); ya que el H_2O_2 y los complejos metálicos están presentes en humanos, es lógico asumir que el $\bullet\text{OH}$ puede ser formado in vivo.²⁵

2.2.3.2 Mecanismos de formación de radicales libres

Los mecanismos de formación de los radicales libres son tres:

1. Transferencia electrónica, en la que se produce la cesión de un electrón a una molécula.
2. Pérdida de un protón de una molécula.
3. Ruptura homolítica de un enlace covalente de cualquier molécula, de manera que cada fragmento obtenido conserva uno de los electrones apareados del enlace.²⁵

2.2.3.3 Estrés Oxidativo

El término se usa para describir la condición de daño oxidativo que resulta cuando el equilibrio crítico entre la generación de radicales libres y las defensas antioxidantes es desfavorable. El estrés oxidativo, que surge como resultado de un desequilibrio entre la producción de radicales libres y las defensas antioxidantes, se asocia con el daño a una amplia gama de especies moleculares que incluyen lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El estrés oxidativo a corto plazo puede ocurrir en tejidos lesionados por traumatismo, infección, lesión por calor, hiperoxia, toxinas y ejercicio excesivo.²⁵

Estos tejidos lesionados producen un aumento de enzimas generadoras de radicales (p. Ej., Xantina oxidasa, lipooxigenasa, ciclooxigenasa), activación de los fagocitos, liberación de hierro libre, iones de cobre o una interrupción de las cadenas de transporte de electrones de la fosforilación oxidativa, que produce un exceso de especie reactivas de oxígeno (EROS).²⁵

El inicio, la promoción y la progresión del cáncer, así como los efectos secundarios de la radiación y la quimioterapia, se han relacionado con el desequilibrio entre las EROS y el sistema de defensa antioxidante. Las EROS se han relacionado con la inducción y las complicaciones de la diabetes mellitus, la enfermedad ocular relacionada con la edad y las enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson.^{25,26}

2.2.3.4 Formación de un radical libre

Debido a la configuración electrónica, el oxígeno presenta fuerte tendencia de recibir un electrón a la vez. La conversión univalente de oxígeno en agua se da como sigue:

La adición de un electrón a una molécula de oxígeno en su estado fundamental genera la formación del radical superóxido. $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet -}$

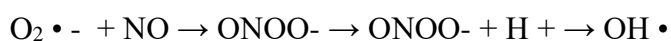
El superóxido que recibe más de un electrón y dos iones de hidrógeno forman peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a través de la Proceso denominado como dismutación. Esta reacción es catalizada por la enzima superóxido dismutasa (SOD) encontrada en altas cantidades en las células de mamíferos y acelera la reacción hasta 10⁴ veces la frecuencia de dismutación espontánea en pH fisiológico. $2 O_2^{\bullet -} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2$ ²⁶

Cuando el H_2O_2 recibe más de un electrón y un hidrógeno ion, se forma el radical hidroxilo (OH^{\bullet}), que es el más reactivo de los intermedios, una vez que pueda reaccionar y cambiar cualquier estructura celular cercana, influyendo así sobre las enzimas, membranas o ácidos nucleicos. El radical hidroxilo se puede formar cuando

el H₂O₂ reacciona con el hierro o iones de cobre. Esta reacción se conoce como reacción de Fenton.²¹: $Fe^{2+} + Cu^{+} + H_2O_2 \rightarrow OH\cdot + OH^{-} + Fe^{3+} + Cu^{2+}$

Los iones de los metales de transición también pueden catalizar la reacción entre H₂O₂ y superóxido, lo que lleva a la producción de hidroxilo radical, la llamada reacción de Haber-Weiss. $H_2O_2 + O_2\cdot^{-} \xrightarrow{Fe/Cu} OH\cdot + OH^{-} + O_2$

Los radicales superóxido e hidroxilo presentan electrones no apareados en su órbita exterior y, por lo tanto, llamados radicales libres. El peróxido de hidrogeno no es un radical libre, sin embargo, representa una parte de metabolito de oxígeno reducido. Otras especies reactivas de interés son el oxígeno singlete, que son formas de oxígeno alteradas por rotación. Estos metabolitos son derivados del oxígeno, si se consideran como un todo, se llaman como especies reactivas de oxígeno (ERO) en función de su aumento reactividad con respecto a las biomoléculas, que generalmente cambian el tamaño y forma de los compuestos con los que interactúan. Además, el radical superóxido puede reaccionar directamente con el óxido nítrico (NO). Un radical libre centralizado en el nitrógeno, que genera peroxinitrito. Este compuesto puede conducir a la formación de un agente oxidante con características de radical hidroxilo.



Cada ERO tiene sus propias características, mostrando diferente reactividad y tiempos de vida media.²⁶

2.2.3.5 Enfermedades, procesos degenerativos y estrés oxidativo

Hay una serie de procesos patológicos atribuibles razonablemente al ataque de RL, al menos estarían implicados en algunas de sus fases o secuencias bioquímicas.²⁷

2.2.3.5.1 El envejecimiento: Es difícil diferenciar entre lo que son procesos propios del envejecimiento o procesos patológicos que se desarrollan preferentemente durante el envejecimiento. El envejecimiento y la muerte pueden ser el resultado de la activación de genes específicos en un momento determinado del ciclo celular (apoptosis).²⁷

2.2.3.5.2 La aterosclerosis: La formación de la placa arteriosclerótica se inicia con la captación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos que se transforman así en células espumosas. Estas células son captadas por el endotelio mediante moléculas de adhesión y se acumulan en el espacio subendotelial, donde inducen la migración de células musculares, su proliferación e hipertrofia. En determinadas condiciones oxidativas las lipoproteínas se fragmentan y se alteran determinados residuos de aminoácidos de la apoproteína de la LDL. Estas LDL oxidadas o productos liberados de ellas, van a tener mayor poder aterogénico ya que son captadas más avidamente por los macrófagos, son citotóxicas para el endotelio y estimulan la producción de factores vasoactivos, de adhesión, trombóticos y de proliferación de células musculares lisas de la

vasculatura, iniciando o extendiendo la lesión aterosclerótica.^{27,28,29}

2.2.3.5.3 Cáncer: El desarrollo tumoral es un proceso altamente complejo caracterizado por la presencia de necrosis celular del tejido sano, crecimiento incontrolado de las células cancerosas, neovascularización del área afectada para asegurar el aporte de oxígeno y nutrientes al tumor, entre otros muchos fenómenos. Se ha sugerido la implicación de los RL en el desarrollo tumoral. Los RL estimulan el crecimiento de las células musculares lisas, lo que sugiere un papel del estrés oxidativo en la neovascularización tumoral o angiogénesis. También se ha observado la activación de algunos genes tempranos que podrían participar en el control de la transcripción de factores de crecimiento necesarios para el desarrollo tumoral.²⁷

2.2.3.5.4 La catarata senil: El cristalino está sujeto al constante bombardeo de radiaciones diversas causantes de procesos químicos irreversibles, que, con el tiempo, por acumulación, producen una creciente opacificación del cristalino; es decir, la catarata. Los RL generados en el cristalino producen entrecruzamiento, desnaturalización, degradación de sus proteínas y otros efectos, formándose gránulos microscópicos de composición compleja por apilamiento desordenado de moléculas, que crecen en tamaño y cantidad, produciendo

inicialmente el efecto Tindall, y finalmente la total opacificación del cristalino.²⁷

2.2.3.5.5 Insuficiencia renal aguda (IRA), crónica (IRC) y diálisis: el daño tubular por isquemia/reperfusión está, al menos en parte, ocasionado por el aumento del estrés oxidativo de la IRA (103). Los RLO producen la activación de la enzima xantina-oxidasa y de los neutrófilos, mecanismos importantes del daño renal por isquemia/reperfusión. El NO (óxido nítrico) parece aumentar en la fase isquémica y los RLO en la de reperfusión, por lo que el balance NO/RLO condicionará la magnitud del daño, así como los donantes de NO tendrán un potencial papel citoprotector frente a la acción de los RLO . En las nefritis por formación de inmunocomplejos, se estimula a los leucocitos polimorfonucleares y a los macrófagos a producir radicales aniones superóxido. Los RLO van a jugar un importante papel en el desarrollo del daño renal y en la formación de la proteinuria. La pérdida de nefronas conduce a una mayor producción de RLO. El aumento de la peroxidación de lípidos de la membrana de los glóbulos rojos está consistentemente documentada en pacientes con IRC, lo cual es un reflejo del aumento del estrés oxidativo por los RLO.^{27,30}

2.2.4. Antioxidantes:

Un antioxidante es una molécula lo suficientemente estable como para donar un electrón a un radical libre y neutralizarlo, reduciendo así su capacidad de daño. Estos antioxidantes retrasan o inhiben el daño celular principalmente a través de su propiedad de eliminación de radicales libres. Estos antioxidantes de bajo peso molecular pueden interactuar de manera segura con los radicales libres y terminar la reacción en cadena antes de que se dañen las moléculas vitales. Algunos de estos antioxidantes, como el glutatión, la ubiquinol y el ácido úrico, se producen durante el metabolismo normal en el cuerpo. Otros antioxidantes más ligeros se encuentran en la dieta. Aunque hay varios sistemas de enzimas dentro del cuerpo que eliminan los radicales libres, los antioxidantes principales de micronutrientes (vitaminas) son la vitamina E (α -tocoferol), la vitamina C (ácido ascórbico) y el B-caroteno. El cuerpo no puede fabricar estos micronutrientes, por lo tanto, Deben ser suministrados en la dieta.^{31,32}

2.2.4.1 Reacción de antioxidantes frente a radicales libres

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente –membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas -lípidos, proteínas, ADN, etc.- funcionalmente vital o

más importante. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos.³³

Los antioxidantes pueden ser moléculas que pueden neutralizar los radicales libres al aceptar o donar electrones para eliminar la condición no apareada del radical. Las moléculas antioxidantes pueden reaccionar directamente con los radicales reactivos y destruirlos, mientras que pueden convertirse en nuevos radicales libres que son menos activos, tienen una vida más larga y son menos peligrosos que los radicales neutralizados. Pueden ser neutralizados por otros antioxidantes u otros mecanismos para terminar su estado radical. Por ejemplo, muchos antioxidantes tienen estructuras de anillos aromáticos y son capaces de deslocalizar el electrón desapareado.³²

La vitamina C en la fase acuosa y la vitamina E en la fase lipídica reaccionarán directamente con o neutralizarán los radicales hidroxilos, alcoxilo y peroxilo lipídico y formarán hidroperóxidos, alcohol y lípidos, respectivamente. La vitamina E en sí misma se convierte en un radical fenilo y la vitamina C se convierte en un radical muy estable, debido a su estructura deslocalizada. Además, la vitamina C también puede neutralizar la forma radical de otros antioxidantes, como el radical glutatión y la radical vitamina E, y regenerar estos antioxidantes. La vitamina C en sí misma se regenera fácilmente con reductasas dependientes de NADH o NADPH . Muchos antioxidantes pueden reaccionar directamente con ROS y / o los intermediarios de radicales libres inducidos por ROS y terminar la reacción en cadena, deteniendo así el daño inducido por ROS .³³

2.2.5. Método Folin -ciatiu

El método de ensayo de Folin-Ciocalteu (F-C) es el método más simple disponible para la medición del contenido fenólico en productos. Es un desarrollo del reactivo de Folin Denis utilizado a principios del siglo XIX para la determinación de la tirosina en proteínas se utiliza para la medición del contenido de compuestos fenólicos cualquier producto se origen vegetales³⁴. Su fundamento e basa en que los compuestos fenólicos que poseen anillos aromáticos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, un medio con pH básico, resultando una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente hasta a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico que reaccionan con estos compuestos fenólicos presente en la muestra de la especie vegetal. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se medirá por espectrofotometría.^{34,35}

Este reactivo es muy estable si está protegido contra los ductantes e incluso cuando se diluye si está protegido de la luz. Desde hace muchos años, el método de ensayo F-C ha estado en uso como una medida de polifenol en productos naturales, y el mecanismo básico es una reacción de oxidación / reducción con el grupo fenólico oxidado y el ion metálico reducido, para este tipo de métodos se puede utilizar como estándar catequina y acido gálico entre otros, que serán equivalente en gramos dependiendo de la concentración de polifenoles.³⁵

2.2.6. DPPH

El uso de DPPH proporciona una manera fácil y rápida de evaluar las actividades antirradicales de los antioxidantes.

En el ensayo DPPH, un electrón impar muestra una fuerte banda de absorción a una longitud de onda de 519 nm, que pierde la absorción una vez que el electrón impar es emparejado por un hidrógeno o un antioxidante donador de electrones (respectivamente). En el ensayo DPPH, un electrón impar muestra una fuerte banda de absorción a una longitud de onda de 519 nm, que pierde la absorción una vez que el electrón impar es emparejado por un hidrógeno o un antioxidante donador de electrones respectivamente.³⁶

La ventaja definitiva de este ensayo sobre la mayoría de los otros ensayos para la determinación de la capacidad antioxidante ha sido su amplia compatibilidad con disolventes orgánicos acuosos polares y no polares como es el caso del metanol en medio acuoso. Esto permite la evaluación de compuestos antioxidantes hidrófilos y lipófilos la capacidad del DPPH de eliminación en las mismas condiciones experimentales sin uso de otros agentes solubilizantes como la b-ciclodextrina que son necesarios en otros ensayos.³⁶

El estándar usado en este método se denomina trolox el cual es un antioxidante de la vitamina E, los resultados de se expresan en mili moles correspondientes a la inhibición presentada correspondiente.

III. HIPOTESIS

Hipótesis implícita.

IV. METODOLOGIA

4.1. Diseño de la investigación:

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo descriptivo, con un nivel de enfoque cuantitativo.

4.2. Obtención de la droga vegetal

La droga vegetal fue adquirida en la provincia de Huaraz del departamento de Ancash, que se encuentra ubicada en las alturas de este departamento.

El estudio se realizó con las hojas de la y tallo de la planta. Estas fueron secadas en estufa a 45°C aproximadamente cada parte por separado de la especie, una vez obtenida la muestra seca se procedió a pulverizarlas y almacenarlas.

4.2.1. Obtención de las preparaciones

4.2.1.1. Extracción exhaustiva

Luego de una pre-selección de las hojas y tallo de la especie *Peperomia inaequalifolia*, y obtenida la muestra pulverizada se pesó 0.5 g de muestra pulverizada de hojas de la especie, para posteriormente realizar extracción exhaustiva con metanol al 80% ,15 mL de metanol por tres veces y los 0.5g de la muestra pulverizada ,los cuales se someten a una agitación por 30 minutos, luego de realizar la agitación ,se centrifugó y el sobrenadante aproximadamente 45 mL se depositó en una fiola de 50 mL y aforamos con metanol 80%. El mismo procedimiento se le confiere al pulverizado de tallo de la especie.

4.2.1.2. Decocción

Para la obtención de este preparado se pesaron las muestras frescas (hojas y tallo), en 250mL de agua, para posteriormente se lleva a la estufa y dejar hasta 10 minutos después de la ebullición, luego de ello se deja enfriar a temperatura ambiente.

4.2.1.3. Infusión

Para la preparación de esta forma, se calientan 250mL de agua hasta ebullición, luego retirar el agua del calor, para posteriormente agregar muestra fresca previamente pesada (hojas y tallo), aproximadamente 10 minutos, luego se retira la muestra del agua.

4.2.1.4. Maceración acuosa

En 1 litro de agua se colocó aproximadamente 2 tallos de muestra fresca, incluidas las hojas, se protegió de la luz, y se mantuvo en ese estado aproximadamente 24h.

4.2.2. Determinación de polifenoles totales

4.2.2.1. Método de Folin – Ciocalteu:

En una fiola de 10 ml se agregó 2,5 ml de agua tipo 2, después se añadió el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5 y 10 ppm (mg/L) para obtener la curva de calibración a las demás fiolas se adicionó 100 μ L de extracto metanólico al 80%, 25 μ L de infusión y 50 μ L de la decocción. Posteriormente se agregó 500 μ L de Folin Ciocalteu y se llevó a oscuridad por 5 minutos. Pasado los minutos se

agregó 2 ml de carbonato de sodio al 10%, seguidamente se aforó con agua tipo 2 continuando se llevó a oscuridad por 90 minutos, finalmente se realizó la lectura en 15' al espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros.

4.2.3. Determinación de capacidad antioxidante

4.2.3.1. Preparación del DPPH

Se preparó metanol en 100 ml, en el que se necesitó 2.3mg de polvo de DPPH se convirtió a gramos y se obtuvo 0.023 gr y se aforó con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo 0.06Mm.

4.2.3.2. Determinación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH

En una cubeta se adicionó 1450 μ L de DPPH a 0.06 mM, se llevó a leer al espectrofotómetro a una longitud de onda de 515nm para obtener la absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), luego de ello se le agregó 50 μ L del extracto de hojas y se colocó a oscuridad por un tiempo de 15 minutos para que reaccione, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15). El análisis se realizó por triplicado para cada una de las muestras.

Como estándar se utilizó el Trolox a concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 Mm, para obtener la curva de calibración.

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{DPPH } t_0 - \text{DPPH } t_{15}}{\text{DPPH } t_0} \times 100$$

4.3. Población y muestra

4.3.1 Población vegetal: Hojas y tallo de *Peperomia inaequalifolia*, obtenidas en la ciudad de Huaraz

4.3.2 Muestra vegetal: Se utilizó 500 g de hoja y 500 g de tallo seco de *Peperomia inaequalifolia*.

4.4. Definición y operacionalización de variables:

| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Indicador |
|--|--|---|---------------------------------------|
| Capacidad antioxidante de diferentes preparados de <i>Peperomia inaequalifolia</i> | Compuestos que en presencia de sustratos oxidables inhiben la oxidación o la retardan | -Capacidad de captar o Inhibir radicales libres (método DPPH) - En cuando hay mayor Captación de radicales libres por un antioxidante, la absorbancia disminuye. | mM trolox eq/ gr de muestra seca |
| Cantidad de Polifenoles en hojas y tallo de <i>Peperomia inaequalifolia</i> | Compuestos que comprenden un anillo aromático, que lleva uno o más sustituyentes hidroxilo, y van desde moléculas fenólicas simples hasta altamente Compuestos polimerizados | Técnica de Folin ciocalteu | Mg de catequina eq/gr de muestra seca |

4.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Se utilizaron la observación directa, registro de reacciones de coloración, medición espectrofotométrica, registrados en fichas de recolección de datos.

4.6. Plan de análisis:

Los datos se procesaron en considerando medidas de tendencia central: promedio, desviación estándar y presentados en tablas con ayuda del Microsoft Excel office 365. Regresión lineal para la calibración del estándar.

4.7. Matriz de consistencia:

| TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN | FORMULACIÓN DEL PROBLEMA | OBJETIVOS: | HIPÓTESIS | VARIABLE | TIPO DE INVESTIGACIÓN | DISEÑO DE INVESTIGACIÓN | POBLACIÓN Y MUESTRA |
|---|--|---|-----------|--|------------------------------|---|--|
| Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en tallo y hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> | ¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en tallo y hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> ”? | <p>Objetivo general: Determinar la capacidad antioxidante y la cuantificación de polifenoles en tallo y hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i>.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Cuantificar los polifenoles presentes en extracto metanólico, decocto, infusión y maceración acuosa de <i>Peperomia inaequalifolia</i> mediante el método Folin – Ciocalteu expresado en mg catequina eq/g muestra seca o fresca respectivamente. 2. Determinar la capacidad antioxidante en el extracto metanólico, decocto, infusión y maceración acuosa de <i>Peperomia inaequalifolia</i> por el método DPPH expresado en mM Trolo eq./g muestra seca o fresca respectivamente. | Implícita | <ul style="list-style-type: none"> • Capacidad antioxidante de hojas y tallo de la especie <i>Peperomia inaequalifolia</i> • Contenido Polifenoles de hojas y tallo de <i>Peperomia inaequalifolia</i> | Estudio de tipo descriptivo. | <ul style="list-style-type: none"> • Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu • Determinación de capacidad antioxidante según el método de DPPH. | <p>Población vegetal: Conjunto de hojas y tallo de <i>Peperomia inaequalifolia</i></p> <p>Muestra vegetal: Se empleó aproximadamente 500 g de las hojas y 500 g de tallo</p> |

4.8. Principios éticos

Se busco recuperar el conocimiento del uso tradicional de plantas medicinales, no solamente para preservar su legado cultural, sino también para registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la población. Como finalidad es contribuir con la protección de la biodiversidad.

V. RESULTADOS

5.1. Resultados:

Tabla 1: Contenido de polifenoles totales expresados en mg de catequina equivalentes a gramo de muestra, según parte de la especie y tipo de extracto en *Peperomia inaequalifolia*

| Tipo de Muestra | Parte de la planta | Tipo de extracto | Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra) |
|-----------------------------------|---------------------------|-------------------------|--|
| Peperonia inaequalifolia (fresco) | Hoja/Tallo | Infusión | 0.81 ± 0.02 |
| Peperonia inaequalifolia (fresco) | Hoja/Tallo | Decocto | 1.08 ± 0.00 |
| Peperonia inaequalifolia (fresco) | Hoja/Tallo | Acuoso | 0.25 ± 0.01 |
| Peperonia inaequalifolia (Seco) | Hoja | Metanólico | 18.94 ± 0.22 |
| Peperonia inaequalifolia (Seco) | Tallo | Metanólico | 22.85 ± 1.02 |

Fuente: Datos propios de a investigación

Tabla 2: Capacidad antioxidante expresada en mM trolox equivalente a gramo de muestra, según parte de la especie vegetal y tipo de extracto en *peperomia inaequalifolia*

| Tipo de Muestra | Parte de la planta | Tipo de extracto | DPPH (mM Trolox Eq./1 g muestra) |
|-----------------------------------|---------------------------|-------------------------|---|
| Peperonia inaequalifolia (fresco) | Hoja/Tallo | Infusión | 6.32 ± 0.79 |
| Peperonia inaequalifolia (fresco) | Hoja/Tallo | Decocto | 9.96 ± 0.66 |
| Peperonia inaequalifolia (fresco) | Hoja/Tallo | Acuoso | 0.62 ± 0.13 |
| Peperonia inaequalifolia (Seco) | Hoja | Metanólico | 399.23 ± 9.15 |
| Peperonia inaequalifolia (Seco) | Tallo | Metanólico | 266.99 ± 0.82 |

Fuente: Datos propios de a investigación

5.2. Análisis de Resultados:

Para determinar la cantidad de polifenoles en una muestra de tipo experimental se realizó mediante el método de Folin – Ciocalteu . Este método se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico que reaccionan con estos compuestos fenólicos presente en la muestra de la especie vegetal. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se medirá por espectrofotometría. La transferencia de electrones al pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula lo cual se valoró por espectrofotometría.^{37,38}

Esta reacción como refiere el estudio de Aillon sobre la determinación de la capacidad antioxidante a partir del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* , que se realizó con el reactivo de Folin-Ciocalteu también demostró que reacción de coloración lo cual evidencia que hay polifenoles esto a un máximo de absorción a 765 nm y que se cuantifico por espectrofotometría.³⁹

La cantidad de polifenoles presentada en la tabla 1, Las absorbancias de los estándares se representaron gráficamente frente a las concentraciones estándar. La línea de regresión a este gráfico (Figura 1) se utilizó para determinar el equivalente de catequina de la concentración de polifenol en las diversas muestras analizadas.

Diferentes estudios demostraron que los métodos de cocción ejercen cambios significativos sobre la actividad antioxidante y alteran el contenido de los compuestos fenólicos en vegetales, con esto se puede suponer que fue el factor de la excesiva diferencia entre los diferentes resultados, no obstante, también las puede disminuir.^{40,41}

En un estudio realizado por Hernández I en la universidad de Chile comparó la extracción de compuestos fenólicos con diferentes solventes, entre ellos éter, etanol y metanol. Se concluyó que con metanol se extraen niveles alto de compuestos fenólicos.⁴²

Por ello se puede suponer que en la extracción metanólico se obtuvo las concentraciones más elevadas de compuestos poli fenólicos ya que el metanol permite una mayor de extracción, no obstante, esto depende del tipo de muestra y la muestra vegetal que se desee extraer.

Se ha demostrado que muchos compuestos no fenólicos sí muestran una considerable reactividad hacia el reactivo Folin-Ciocalteu . Por lo tanto, el análisis no debe considerarse como una medida del contenido fenólico total, sino más bien como una medida de la capacidad antioxidante general y se explicaría

que la actividad antioxidante no fue equitativa con los compuestos polifenólicos en las muestras analizadas.⁴³

La cantidad de polifenoles presentada en la tabla 1 describe que la concentración en la muestra seca de tallo a partir del extracto metanólico al 80% expresados en 22.5 ± 1.02 /mg de catequina eq. /g de muestra seca, en extracto metanólico de muestra de hoja seca se obtuvo 18.94 ± 0.22 /mg de catequina eq. /g de muestra seca, también se muestra que en el preparado por decocción se obtuvo una concentración expresado en 1.08 ± 0.00 /mg de catequina eq. /g de muestra fresca, para la extracción por infusión 0.81 ± 0.02 /mg de catequina eq. /g de muestra fresca y por último en la muestra obtenida por una maceración acuosa se obtuvo 0.25 ± 0.01 /mg de catequina eq. /g de muestra fresca.

Sobre la capacidad antioxidante de las distintas muestras presentada en la tabla 2, se determinó que las hojas secas de *Peperomia inaequalifolia* a partir del extracto metanólico al 80% presentaron una capacidad de inhibición con una concentración de 399.23 ± 9.15 /mM trolox eq. /g de muestra seca, en el extracto exhaustivo de muestra de tallo seca obteniendo 266.99 ± 0.82 /Mm trolox eq. /g de muestra seca, en la extracción por decocción obteniéndose un resultado de 9.96 ± 0.66 /mM trolox eq. /g de muestra fresca, en el extracto por infusión se tuvo 6.32 ± 0.79 /mM trolox eq. /g de muestra fresca y por último en la muestra obtenido por maceración acuosa se obtuvo 0.62 ± 0.13 /mM trolox eq. /g de muestra fresca.

El efecto de eliminación de los extractos en un radical DPPH se controló como se describe. En resumen, se analizó la proporción de eliminación de la muestra

y Trolox en DPPH al mismo tiempo, y luego se evaluó un rango de concentración adecuado de Trolox y su porcentaje de eliminación se relacionó con una ecuación de regresión lineal entre la concentración de Trolox y su porcentaje de captación, y la capacidad antioxidante equivalente de Trolox se calculó a través de la ecuación, de acuerdo con el porcentaje de captación de la solución de muestra a la solución de radical DPPH.

Se calculó una ecuación de regresión lineal con las concentraciones de la solución de Trolox como la variable independiente (X) y el porcentaje de efecto de eliminación en el radical DPPH como la variable dependiente (Y).

Mientras tanto, el porcentaje de captación en el radical DPPH de la solución de muestra se probó después del tratamiento con la solución de Trolox. El efecto de captación en el radical DPPH de las muestras se podría calcular como la capacidad antioxidante del equivalente de Trolox a partir de la curva de calibración.

Se ha reportado que la capacidad antioxidante está relacionada con el poder reductor y estas propiedades reductoras están asociadas a la presencia de compuestos fenólicos que ejercen su acción a través del rompimiento de la reacción en cadena de los radicales libres por donación de un átomo de hidrógeno. De esto se puede interpretar la actividad antioxidante en la prueba DPPH, el contenido de polifenoles totales se correlaciona bien con la actividad antioxidante expresada como poder reductor y como actividad antioxidante según estudio.⁴⁴

En resumen la actividad antioxidante se determinó por la actividad que realizó el antirradical DPPH, en presencia de un posible agente antioxidante presente en la muestra se *peperomia inaequalifolia*. El compuesto 2,2 -difencil-2-pricrilhidrazil (DPPH), es representativo por tener un color violeta muy notable el cual se va decolorando al interactuar con un antioxidante hasta una coloración amarilla o incolora ,según cantidad de antioxidantes presentes .

En el estudio realizado con el aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* se determinó que posee capacidad antioxidante. También evaluó usando la misma metodología en la que se describe el mecanismo, la absorbancia es medida espectrofotométricamente. Y la diferencia de absorbancias permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres antioxidante, pero se presencian más decoloración a más exposición a agentes antioxidantes y por lo tanto existiría una mayor actividad antioxidante.

Molecularmente esta reacción se puede explicar de la siguiente manera; el antioxidante actúa como antirradical al donar átomos de hidrogeno, y producto de esto se producen estructuras moleculares estables que detendrán la reacción en cadena. Este radical formado interactúa con otras moléculas para formar compuestos estables. Este mecanismo no es igual para todas las moléculas ya que no todas poseen la misma composición estructura y van a o interactuar de manea diferente con el DPPH, por ello las comparaciones cuantitativas pueden variar.^{46,47}

VI. CONCLUSIONES

Se cuantificaron los compuestos polifenólicos en *Peperomia inaequalifolia*, presentes en tallo y hojas mediante el método Folin-ciocaltei en extracto exhaustivo, decocto, infusión y maceración acuosa los cuales se expresaron en mg catequina eq/g muestra seca o fresca respectivamente. También se determinó la capacidad antioxidante de *Peperomia inaequalifolia* mediante método DPPH en los mismos preparados, la capacidad antioxidante fue expresado en mM Trolox eq./g muestra seca o fresca respectivamente.

En la muestra seca de tallo a partir del extracto metanólico 80% se encontró 22.5 ± 1.02 /mg de catequina eq. /g de muestra, en maceración acuosa una concentración expresada en 0.25 ± 0.01 /mg de catequina eq. /g de muestra fresca.

En la capacidad antioxidante se presentaron en las hojas secas una concentración de 399.23 ± 9.15 /mM trolox eq. /g de muestra seca, y en la muestra obtenido en maceración acuosa se encontro 0.62 ± 0.13 /mM trolox eq. /g de muestra fresca.

Referencias bibliográficas

1. Zevallos Escobar L. Proyecto De Línea De Investigación De La Escuela De Farmacia Y Bioquímica [Internet]. campus.uladech.edu.pe. 2016 [cited 14 June 2017]. Available from: http://campus.uladech.edu.pe/pluginfile.php/5937046/mod_resource/content/0/LINEA%20DE%20INVESTIGACION%20EN%20PLANTAS%20MEDICINALES.pdf
2. Wilhelm de Moesbach E. Botánica indígena de Chile [Libro Electrónico]. 1st ed. Villarrica-Chile: Andres Bello; 1986 [cited 3 July 2017].p.71. Available from: <https://books.google.com.pe/books?id=2MED9w1W9VUC&pg=PA71&dq=Peperomia+inaequalifolia&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwiD2oHCxe3UAhWF6CYKHc5bDscQ6AEIJTAA#v=onepage&q=Peperomia%20inaequalifolia&f=false>
3. Gracia Manuel. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. [Internet]. Universidad autónoma de querétaro. [cited 15 June 2018].2007. Available from: http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf

4. Dornelles C. Reischak A. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. Rev Bras Med Esporte. [Articule on line].2004,Jul-Ago. [cited 24 September 2018] . 10(4).Disponible en: http://www.scielo.br/pdf/rbme/v10n4/en_22047.pdf
5. Percival M. Antioxidants. Clinical Nutrition Insights. [Articule on line]1998 ;Octubre [cited 24 September 2018] ; 96(1) .Disponible en : <https://acudoc.com/Antioxidants.PDF>
6. Tapas A. Sakarkar D. Kakde R Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research [Articule on line]. September 2008. [cited 24 September 2018]. 7 (3): 1089-1099.Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?pr08030>
7. Piljac J. Antioxidants: Mechanisms of Action and Effectiveness. Brunswick Labs. [Internet]. Massachusetts. [cited 24 September 2018]. Disponible en: <https://brunswicklabs.com/blog/antioxidants-mechanisms-of-action-and-effectiveness/>
8. Kumar S. The Importance Of Antioxidant And Their Role In Pharmaceutical. Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences. Department of Pharmacy. [Articule on line].2014. [cited 24 September 2018]. 1(1): 27 - 44. Disponible en :<https://pdfs.semanticscholar.org/991e/7b4469ab6573391b11d662b2837b3ac0cf0f.pdf>
9. Venereo Gutiérrez Justo R.. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cub Med Mil [Internet]. 2002 Jun [citado 2018 Jun

24] ; 31(2): 126-133. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009&lng=es.

10. Carvajal C, Quintero M. Caracterización fitoquímica, actividad antimicrobiana y antimicótica del aceite esencial de congona (*Peperomia inaequalifolia* Ruiz&Pav.) Piperaceae [Título]. ups.edu.e. 2012 [cited 20 June 2017]. Available from:
<http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4073/1/UPS-QT02906.pdf>
11. Alam K, Moizur R, Sharif I. Antipyretic Activity of *Peperomia pellucida* Leaves in Rabbit. Turkish Journal of Biology [article on line]. 2008 [cited 28 June 2017]; 32 (1):37-41. Available from:
<http://dergipark.gov.tr/download/article-file/121358>
12. Seong wei L, yuen S. *Peperomia pellucida* leaf extract as immunostimulator in controlling motile aeromonad septicemia due to *Aeromonas hydrophila* in red hybrid tilapia, *Oreochromis* spp. farming. Veterinary World [artículo en línea]. 2016 [cited 27 June 2017]; 9(3):231-234. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4823281/pdf/VetWorld-9-231.pdf>
13. Ugarte D., Mercado S., Valoración Cicatrizante Del Extracto De Congona (*Peperomia Congona* Ruiz Y Pav) En Herida Post Traumática En Ratas

- Wistar. Evaluación Histológica. Investigación Andina [Artículo Virtual]. 2015 [cited 20 June 2017]; 15(1):139,148. Available from: <http://190.116.50.21/ojs/index.php/rev-uancv/article/viewFile/54/45>
14. Castro M. Características Fisicoquímicas Del Aceite Esencial De Las Hojas De Peperomia dolabriformis Kunth Y Su Efecto Sobre Íleon Aislado De Cavia porcellus” [Bachiller]. Universidad Nacional De Trujillo; 2015. [cited 27 June 2017]. Available from:<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1534/Castro%20Alvarado%2C%20Jhanelly.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
15. Aillon C. Estudios De Actividad Antioxidante En Fracciones Provenientes De Dos Plantas Medicinales Ecuatorianas: Extractos Hidroalcohólicos De Mashua (Tropaeolum Tuberosum (Ruíz Y Pavón) Tropaeolacea) Y Aceite Esencial De Congona (Peperomia Inaequalifolia (RUÍZ Y PAVÓN) Piperacea E). [Titulo]. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito; 2014. Available from: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9903/1/QT08034.pdf>
16. Noriega P.Mosquera T.Abad J.etal. Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial proveniente de la hojas de piper pubinervulum c. dc piperaceae.[Artículo de revista].2016.[Citado el 26 de Octubre del 2018].24(2):111-123.Disponible en:https://www.researchgate.net/publication/316533377_Composicion_quimica_actividad_antioxidante_y_antimicrobiana_del_aceite_esencial_proveniente_de_la_hojas_de_Piper_pubinervulum_C_DC_Piperaceae?enrichId=rgreq-

fd0ae8f913fcb8180b35e56aa275639-

XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzMxNjUzMzM3NztBUzo2MDg4MjM0MDQ0MjUyMTZAMTUyMjE2NjIxOTM5Ng%3D%3D&el=1_x_2&esc=publicationCoverPdf

17. Seong Wei L, Wee W, Yong Fu J. et al. Characterization of Anticancer, Antimicrobial, Antioxidant Properties and Chemical Compositions of *Peperomia pellucida* Leaf Extract. [Artículo de revista]. Enero 2011. [Citado el 26 de octubre del 2018]. 49(10):671-674. Disponible en: https://www.researchgate.net/figure/Antioxidant-activity-of-Peperomia-pellucida_fig2_267036625

18. Mun'im A, Nurpriantia S, Setyaningsih R. et al. Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Active Compounds, Antioxidant Activity and Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Activity from *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. [Artículo de revista]. 2017. [Citado el 26 de octubre del 2018]. 9(1): 73-78. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/315595398_Optimization_of_Microwave-Assisted_Extraction_of_Active_Compounds_Antioxidant_Activity_and_Angiotensin_Converting_Enzyme_ACE_Inhibitory_Activity_from_Peperomia_pellucida_L_Kunth

19. Correa M, Palomino L. Mosquera O. Actividad antioxidante y antifúngica de piperaceas de la flora colombiana. [Artículo Virtual]. Revista Cubana de Plantas Medicinales.2015, [cited 54 September 2018]. 19(2):167-181.Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v20n2/pla03215.pdf>
20. Lajones A.Plantas medicinales utilizadas por los habitantes del sitio la siberia y de la parroquia bolívar.[Internet].Ecuador 2006.[Citado el 27 de octubre del 2018].Disponible en: www.ecocostas.org/success/images/documentos/1236098278_Plantas%20medicinales.pdf
21. Pino G. Estado actual de las Suculentas en el Perú. [Internet]. 2006. [Citado el 27 de octubre del 2018]. Disponible en: <http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/rza/article/viewFile/560/549>
22. Pooja V.Sunita M.Antioxidants and Disease Prevention.[Artículo de revista].Marzo-Abril 2014.[Citado el 26 de octubre del 2018].4(2):903-911.Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/262525852_Antioxidants_and_Disease_Prevention
23. Manach C.Scalbert A.Mprand C.Morand C.Remesy C.Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability.[Artículo de revista].2004.[Citado el 26 de octubre del 2018].79(5):727-747.Disponible en : <https://academic.oup.com/ajcn/article/79/5/727/4690182>
24. Pereira G.Vianello F.Correa C.Da Silva R.Galhardo J.Polyphenols in Fruits and Vegetables and Its Effect on Human Health.[artículo de

- revista].2014.[citado el 26 de octubre del 2018].5(1):1065-1082.Disponible en: https://file.scirp.org/pdf/FNS_2014061815351482.pdf
25. Dornelles C.Reishack A. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training.[Articulo de revista].Julio/Agosto 2004.[Ciatdo el 7 de octubre del 2018].10(4).Disponible en: http://www.scielo.br/pdf/rbme/v10n4/en_22047.pdf
26. Pal Yu B. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev.* [Articulo de revista]. 1994.[Citado del 7 de octubre el 2018].74(1):139-62. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8295932>
27. Maldonado O. Jiménez E. Bernabé M. Ceballos M, Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. [Artículo en línea].2010,Julio[cited 20 June 2018]; *Rev Med UV.* Disponible en: https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf
28. Loaiza S. Fisiopatología de la aterosclerosis, primera parte. *Rev. costarric. cardiol [Internet].* 2001 ;agosto [citado 20 de junio 2018]; 3 (2): 54-63. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-41422001000200009&lng=en.
29. Rice C.Diplock A. Current Status Of Antioxidant Therapy.[Articulo en línea].1993.[Citado el 7 de octubre del 2018]. 15 (1):77-96. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089158499390127G?via%3Dihub>

30. Ongajooth L, Ongajooth S, Likidlilid A, Chantachun Y, Shayakul C, Nilwarangkur S. Role of lipid peroxidation, trace elements and antioxidants enzymes in chronic renal disease patients. J Med Assoc Thai [Internet]. 1996 [citado 20 de junio 2018]; 79: 791-800. Disponible en: <https://europepmc.org/abstract/med/9071084>
31. Lobo V.Patil A.Phatak A.Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health.Pharmacogn Rev.[Articulo de revista].2010;julio .[Citado el 7 de Octubre del 2018]. 4(8): 118–126 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249911/>
32. Gutiérrez V. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. [Internet].2002. [citado 20 de junio 2018] 31(2):126-33. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf
33. Jian-Ming L. Lin P. Qizhi Y. Changyi C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants:experimental approaches and model systems. J. Cell. Mol. Med.[Articulo de revista].2010 .[Citado el 8 de Octubre del 2018].14(4):840-860.Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2927345/pdf/jcmm0014-0840.pdf>
34. Garcia E. Fernández I. Fuentes A. Determinación de los polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.[Internet].España :Universidad Politécnica de Valencia-[Citado el 29 de octubre del 2018]. Disponible en :

[https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Martín
ez%20et%20al.pdf?sequence=1](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Martín%20et%20al.pdf?sequence=1)

35. Agbor G .Vinson J.Donelli P.Reactivo de Folin-Ciocalteu para ensayo polifenólico.[Artículo de revista].2014.[Citado el 29 de octubre del 2018].3(8):147-156.Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/268811626_Folin-Ciocalteu_Reagent_for_Polyphenolic_Assay
36. Bondet V. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH Free Radical Method.[Artículo de revista].1997. [Citado el 29 de octubre del 2018] .30(6): 609-615. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643897902401>
37. Jadhav A.Kareparamban J. Nikam P.Kadam V.Spectrophotometric Estimation of Ferulic Acid from Ferula asafoetida by Folin - Ciocalteu's ReagentDer Pharmacia Sinica.[Artículo de revista].2012.[Citado el 29 de Octubre del 2018];3(6):680-684.Disponible en : www.imedpub.com/articles/spectrophotometric-estimation-of-ferulic-acid-from-ferula-asafoetida-by-folin--ciocalteus-reagent.pdf
38. Villanueva J. Cuantificación de polifenoles totales en flor de Senna reticulata. [Tesis]. Perú: Universidad católica los Ángeles de Chimbote;2016 [Citado el 26 de octubre del 2018]. Disponible en:

http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/386/POLIFENPOLES_FOLIN_CIOCALTEU_VILLANUEVA_ALAYO_JAREK_BRYAN.pdf?sequence=1

39. Ojeda K. Estudio Fitoquímico Y Actividad Biológica De Plantas Utilizadas En Medicina Mapuche. Universidad Austral de Chile. [tesis para título].Chile.[Citado el 29 de octubre del 2018].2013.Disponible en: cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fco.39e/doc/fco.39e.pdf
40. Turkmen N .Sari F. Velioglu S.The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables.[Artículo de revista].2005.[Citado el 26 de octubre del 2018].93(4):713-718.Disponible en : <https://fs.unb.br/nutricao/laboratorios/tecdie/wp-content/uploads/2012/10/The-effect-of-cooking-methods-on-total-phenolics-and-antioxidant-activity-of-selected-green-vegetables.pdf>
41. Zhang D .Hamausu Y .Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking.[Artículo de revista].2004.[Citado el 26 de octubre del 2018].88(4):503-509.Disponible en: <https://eurekamag.com/pdf/004/004267127.pdf>
42. Izquierdo A.Estudio comparativo de cuatro métodos de extracción de compuestos fenólicos de bayas de vitis vinifera.[Internet].2011.[Citado

el 27 de octubre del 2018]. Disponible en:

<http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/111142>

43. Everette J. Bryantt Q. Green A. Abbey Y. Wangila G. Walker R.A Thorough Study Of Reactivity Of Various Compound Classes Towards The Folin-Ciocalteu Reagent. *J Agric Food Chem.* [Artículo de revista]. 2010; Jul. [Citado el 27 de Octubre del 2018]; 58(14): 8139-8144. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4075968/pdf/nihms217959.pdf>
44. Padilla A. Rincón A. Bou-Rached. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. [Artículo de revista]. Venezuela 2008. [Citado el 27 de octubre del 2018]. 58 (3) :303-308. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/237696788_Contentido_de_polifenoles_y_actividad_antioxidante_de_varias_semillas_y_nueces
45. Castañeda C. Ramos LL. Ibañez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista horizonte Medico.* [Artículo de revista]. 2018; Julio . [Citado el 27 de octubre del 2018]. 8(1):52-72. Disponible en : www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/196/209
46. Liao H. Dong W. Shi X. Liu H. Yuan K. Analysis and comparison of the active components and antioxidant activities of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. [Artículo de revista]. Abril-Junio

2012.[Citado el 29 de octubre del 2018].8(30):156-161.Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3371438/>

47. Hale A.Reddivari L. Nzaramba N. Bamberg J. Creighton J .Interspecific Variability for Antioxidant Activity and Phenolic Content Among Solanum Species[Articulo de revista].Octubre 2008.[Citado el 29 de octubre del 2018].85(5):332-341.Disponible en:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s12230-008-9035-1>

ANEXOS

ANEXO 1

**Herbarium Truxillense (HUT)**
Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N 53 – 2017- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

División : Angiospermae
Clase : Dicotyledoneae
Subclase : Archychlamydeae
Orden : Piperales
Familia : Piperaceae
Género : *Peperomia*
Especie : *P. inaequalifolia* Ruiz & Pav.

Muestra alcanzada a este despacho por KRISTEL ALEXANDRA LARA GUZMÁN, identificado con DNI N° 72286755, con domicilio legal Av. Meiggs N°721-Chimbote; estudiante procedente de la Universidad Católica los Angeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la para la realización del proyecto de investigación para optar el grado de Bachiller: "Efecto antihistaminico del extracto acuoso de hojas de *Peperomia inaequalifolia* en *Rattus rattus* var. *albinus*".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 14 de Julio del 2017


Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

cc: Herbario HUT

E-mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

Imagen 1: Constancia para la determinación taxonómica de *Peperomia inaequalifolia*
Fuente: Herbario de la Universidad Nacional de Trujillo

ANEXO 2

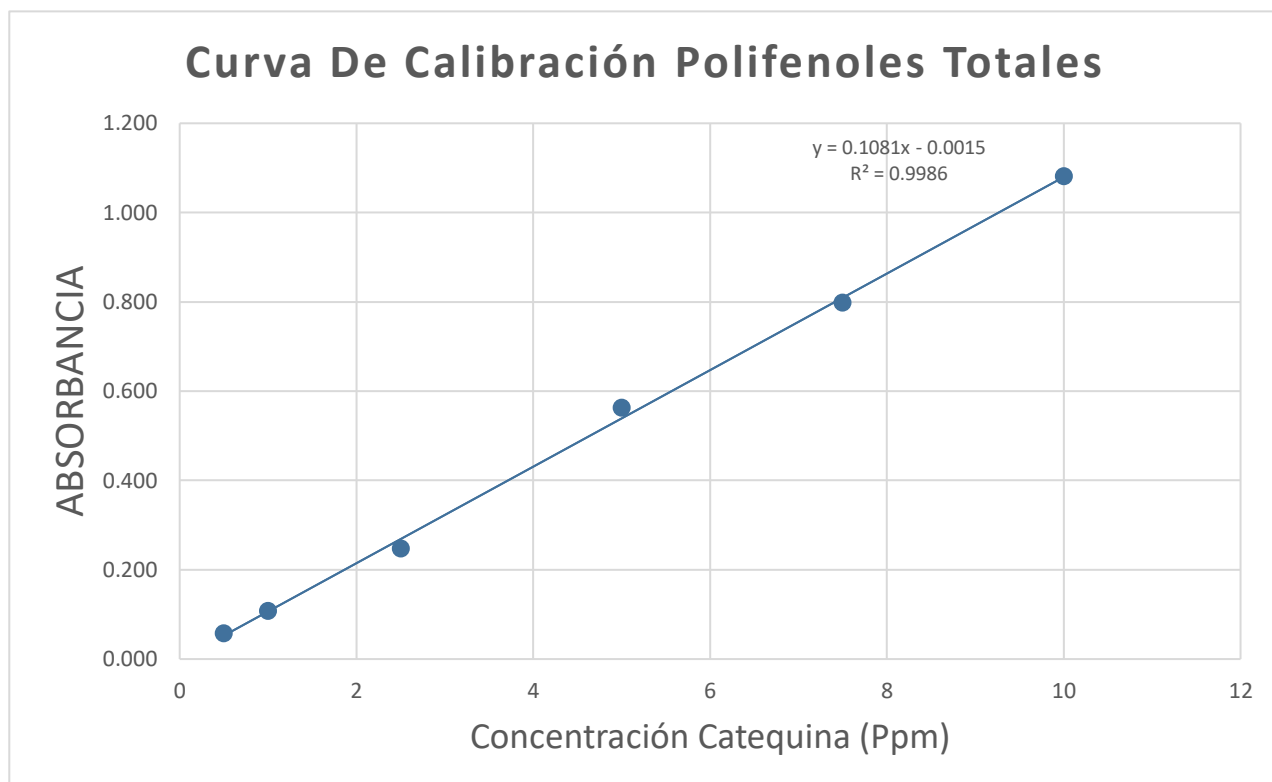


Gráfico 1: Curva de calibración de polifenoles

Fuente: Datos de la investigación

ANEXO 3

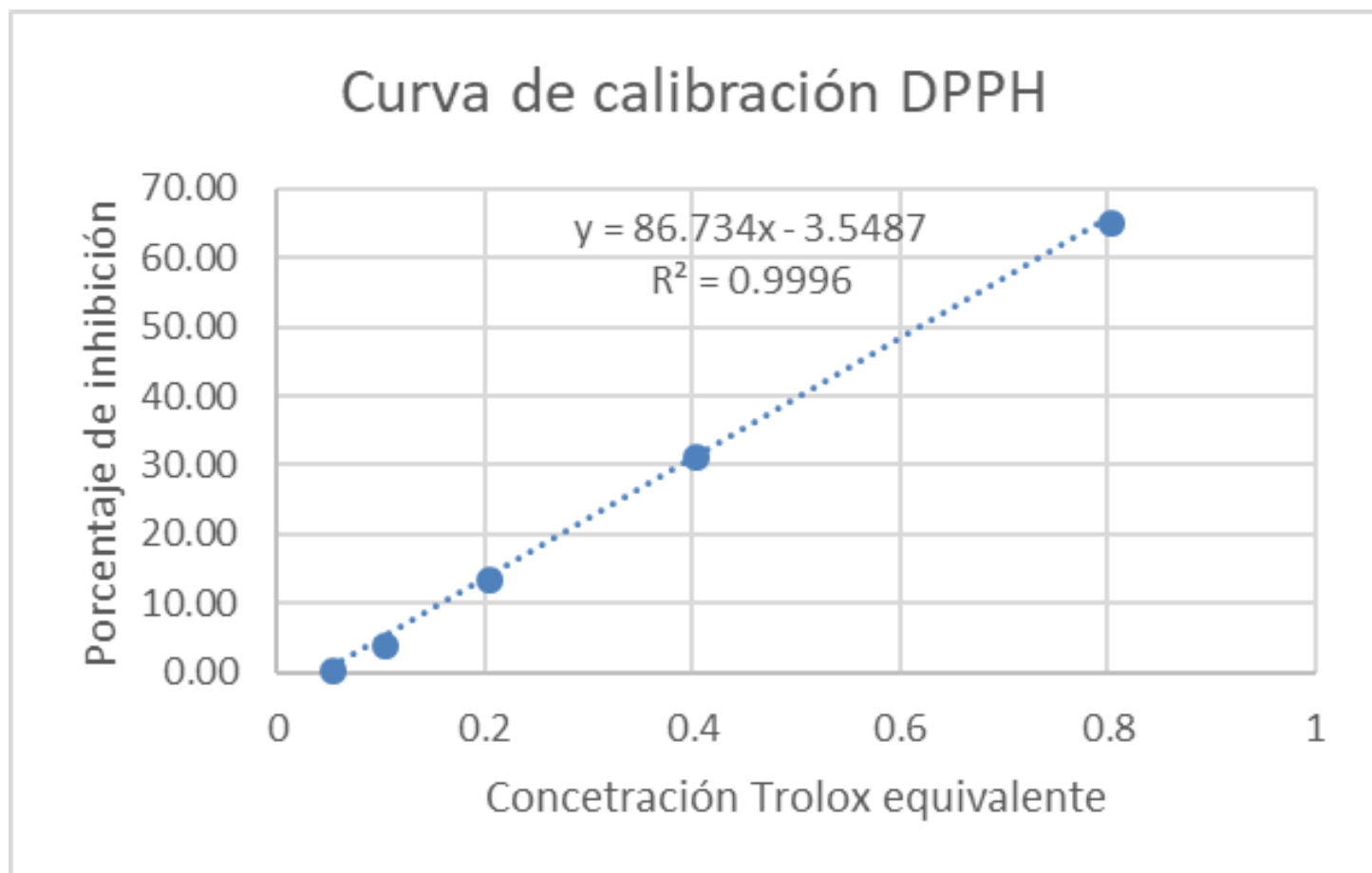


Gráfico 2: Curva de calibración de DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazilo)

Fuente: Datos de la investigación

ANEXO 4



Imagen 2: Recolección de *Peperomia inaequalifolia*
Fuente: Departamento Ancash, Huaraz (Ciudad de Huaraz)



Imagen 3: Fragmentación de hojas y tallos *Peperomia inaequalifolia*
Fuente: Laboratorio de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.



Imagen 4: Preparados de las muestras de *Peperomia inaequalifolia*
Fuente: Laboratorio de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote



Imagen 5: Peso de las partes de *Peperomia inaequalifolia*
Fuente: Laboratorio de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.



Imagen 5: Reacción de reactivo DPPH

Fuente: Laboratorio de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.



Imagen 6: Preparación de la maceración acuosa.

Fuente: Laboratorio de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.