



UNAP



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE HOJAS DE *Laportea aestuans* L. Y
Mangifera indica L. POR EL MÉTODO 1,1-DIFENIL-2-PICRIL-HIDRAZILO --
DPPH**

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

PRESENTADA POR:

SALOME MARINA ESTELA ESCALANTE RENGIFO

ASESORES:

**Q.F MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mgr.
Ing. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO, Dra.**

IQUITOS, PERÚ

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Facultad de Farmacia y Bioquímica

"Año de la Universalización de la Salud"

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS N°022-PCGT-FFyB-UNAP-2021/OFICIO N°381-DINV-UNAP-2020

En la ciudad de Iquitos, Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, por vía Zoom de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, a los 23 días del mes de abril de 2021, a horas 10:00, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulado "ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *in vitro* DE HOJAS DE *Laportea aestuans* L. Y *Mangifera indica* L. POR EL MÉTODO 1,1 -DIFENIL - 2 PICRIL- HIDRAZIL -DPPH", aprobado con Resolución Decanal N°071-2021-FFyB-UNAP, presentado por la Bachiller: SALOME MARINA ESTELA ESCALANTE RENGIFO, para optar el Título Profesional de Químico(a) Farmacéutico(a) que otorga la Universidad de acuerdo a Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°272-FFyB-UNAP-2020, está integrada por:

Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.	Presidente
Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mgr.	Miembro
ING. CLETO JARA HERRERA, MSc.	Miembro

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: Satisfactoriamente

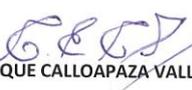
El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública y la tesis han sido aprobados con la calificación Muy buena

Estando la bachiller apta para obtener el Título Profesional de Químico(a) Farmacéutico(a).

Siendo las 11:00 am se dio por terminado el acto académico de sustentación.


Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.
Presidente


Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mgr.

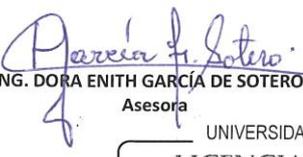
Miembro


ING. CLETO JARA HERRERA, MSc.

Miembro


Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mgr.

Asesor


ING. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO, Dra.

Asesora

Carretera Zungarococha – Nina Rumi
Correo electrónico: farmacia
San Juan – Loreto – Perú. Celular N°942917936
www.unap-iquitos.edu.perú

UNIVERSIDAD
LICENCIADA
RESOLUCIÓN N°012-2019-SUNEDU/CD

Lima, 1 de febrero de 2019

JURADO Y ASESORES



Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.
CQFP N° 05857

Presidente



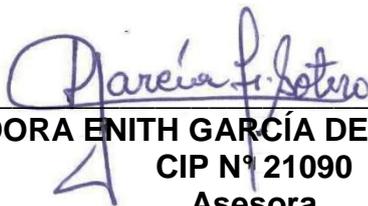
Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOPAZA VALLADARES, Mgr.
CQFP N° 05274

Miembro



Ing. CLETO JARA HERRERA, Mgr.
CIP N° 63042

Miembro



Ing. DORA ENITH GARCÍA DE SOTERO, Dra.
CIP N° 21090

Asesora



Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mgr.
CQFP N° 13374

Asesor

DEDICATORIA

En primer lugar, a mis padres Walixon Ronal Escalante Torres y Mayri Loli Rengifo Amasifuen de Escalante, por haberme brindado todo su apoyo incondicional y enseñarme buenos valores, por la motivación constante que permitieron que hoy en día sea la persona que soy y por su amor incondicional.

En segundo lugar, de manera especial a mis asesores Ing. Dora Enith García de Sotero, Dra. y Q.F Mario Javier De la Cruz Flores, Mgr. por haber compartido sus conocimientos a lo largo del proceso de la elaboración de este proyecto de investigación quienes me guiaron con su paciencia y rectitud como docentes.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a todos mis hermanos, Charo, Fernando, Lecita, Miguel, Walker y Oscar y a mis amigos Billy, Giovanna, Lesly y Zoila por apoyarme cuando más los necesito, por extender su mano en momentos difíciles y por el amor brindado cada día, siempre los llevo en mi corazón.

Salome Escalante

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme salud, bendecir cada paso que doy y haber permitido llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su amor y su apoyo incondicional que con su esfuerzo y dedicación me ayudaron a culminar mi carrera universitaria y me dieron el apoyo suficiente para no decaer cuando todo parecía complicado e imposible.

A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

De igual manera a mis amigos por estar siempre presentes en cada momento de mi vida.

A todos mis profesores quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional, gracias a cada uno de ustedes por su paciencia, dedicación, apoyo incondicional y amistad.

Finalmente, expresar mi más grande y sincero agradecimiento a mis asesores por ser los principales colaboradores durante todo este proceso, quienes con sus direcciones, conocimientos, enseñanzas y colaboración permitieron el desarrollo de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Páginas
PORTADA	I
ACTA DE SUSTENTACIÓN	II
Jurado y Asesores	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Índice de contenido	vi
Índice de tablas	ix
Índice de figuras	viii
Resumen	x
Abstract	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	5
1.3. Definición de términos básicos	9
CAPITULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	11
2.1. Formulación de la hipótesis	11
2.2. Variables y su operacionalización	11
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	13
3.1. Tipo y diseño	13
3.2. Diseño muestral	13
3.3. Procedimientos de recolección de datos	13
3.4. Procesamiento y análisis de la información	16
3.5. Aspectos éticos	16
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	17
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	24
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	25
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	26
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de Inhibición al radical DPPH• de las especies vegetales en estudio a la concentración de 50 mg/mL	20
Tabla 2. Descripción estadística de los grupos de estudio según porcentaje de inhibición DPPH	21
Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas –Porcentaje de inhibición DPPH	22
Tabla 4. Análisis de varianza de grupos de estudio – Porcentaje de Inhibición DPPH	23
Tabla 5. Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio – Porcentaje de inhibición DPPH	24
Tabla 6. Cálculo de IC ₅₀ a partir de la ecuación obtenida con su respectivo R ²	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. DPPH antes y después de su reacción con el compuesto antioxidante.	9
Figura 2. Porcentaje de inhibición al radical DPPH con el extracto de hojas de hojas de <i>Laportea aestuans</i> L. “ishanga colorada”	17
Figura 3. Porcentaje de inhibición al radical DPPH con el extracto de hojas de hojas de <i>Mangifera indica</i> L. “mango chico rico”	18
Figura 4. Porcentaje de inhibición al radical DPPH• con los grupos de estudio por cada concentración evaluada	19

ANEXOS

Anexo 1. Diagrama de flujo - Determinación de la actividad antioxidante en especies vegetales

Anexo 2. Constancia de certificación de la especie vegetal

Anexo 3. Proceso de la parte experimental de la tesis

Anexo 4. Cubetas con extracto metanólico de *Laportea aestuans* L., después de su lectura en espectrofotómetro UV-visible

Anexo 5. Cubetas con extracto metanólico de *Mangifera indica* L., después de su lectura en espectrofotómetro UV-visible

Anexo 6. Imagen del reactivo DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

Anexo 7. Espectrofotómetro UV/Vis marca Genesys 10S

RESUMEN

El gran interés del estudio de especies vegetales, se concentra en su riqueza química. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto de hojas de *Laportea aestuans* L. "ishanga colorada" y *Mangifera indica* L. "mango chico rico" por 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo -- DPPH. Muestras de hojas de las especies vegetales colectadas por conveniencia: hojas pulverizadas, maceradas en metanol por siete días y posteriormente filtradas. Se prepararon soluciones de las muestras en concentraciones de 4, 8, 16, 32 y 50 mg/mL; para el DPPH a concentración de 0,1 mMol; las lecturas se realizaron en el equipo espectrómetro UV/vis a 517 nm. Los resultados obtenidos para hojas de *L. aestuans* L. $IC_{50} = 21,14$ mg/mL e $IC_{50} = 2,93$ mg/mL para *M. indica* L. Con respecto a la capacidad de reacción con el radical libre estable DPPH, el IC_{50} que se obtuvieron fue menor en hojas de *M. indica* L. y se concluye que exhiben una mayor capacidad antioxidante en comparación a hojas de *L. aestuans* L.

Palabras clave: Actividad antioxidante, DPPH, "ishanga colorada", "mango chico rico".

ABSTRACT

The great interest in the study of plant species is concentrated in their chemical richness. The objective of this work was to evaluate the antioxidant activity in vitro of the leaf extract of *Laportea aestuans* L. "ishanga colorada" and *Mangifera indica* L. "mango chico rico" by 1,1-diphenil-2-picryl-hydrazyl - DPPH. Leaf samples of plant species collected for convenience: pulverized leaves, macerated in methanol for seven days and subsequently filtered. Sample solutions were prepared at concentrations of 4, 8, 16, 32 and 50 mg / mL; for DPPH a concentration of 0.1 mMol; the readings were made on the UV / vis spectrometer equipment at 517 nm. The results obtained for *L. aestuans* L. leaves $IC_{50} = 21.14$ mg / mL and $IC_{50} = 2.93$ mg / mL for *M. indica* L. Regarding the reaction capacity with the stable free radical DPPH, the IC_{50} that is obtained was lower in leaves of *M. indica* L. and it is concluded that they exhibit a higher antioxidant capacity compared to leaves of *L. aestuans* L.

Key words: Antioxidant activity, DPPH, "ishanga colorada", "mango chico rico".

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo se desarrolló tratando de aprovechar la abundante flora que existe en nuestra Región Amazónica, las mismas que aún se encuentran olvidados desde el punto de vista de la investigación científica, más no así en la etnobotánica; esto debido a que de forma ancestral se han venido utilizando recursos naturales de generación en generación, para poder aliviar o evitar las patologías de muchas enfermedades.

Basados en estas premisas, se ha elegido las especies de las hojas de *Laportea aestuans* L y *Mangifera indica* L., para hacer la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* de estas dos especies que son muy utilizadas en nuestra Región como plantas medicinales, y de ésta manera se consiga ampliar las investigaciones y la bibliografía de estas especies.

El estrés oxidativo está involucrado en el desarrollo de numerosas enfermedades crónicas y en el proceso de envejecimiento (1). Asimismo, puede generar desequilibrio entre la generación de compuestos oxidantes y la capacidad de los sistemas de defensa antioxidantes del organismo para hacer frente a la agresión oxidativa y sus efectos adversos (2).

El alto índice de radicales libres que sobrepasa la cantidad de sustancias antioxidantes, conduce al estrés oxidativo, lo que produce daño celular (3). La incapacidad del organismo para poder neutralizar los radicales libres a los que se expone diariamente, obliga a recurrir a nutrientes que tengan propiedad de neutralizarlos. Un nutriente tiene propiedades antioxidantes cuando es capaz de neutralizar la acción de una molécula inestable, es decir un radical libre, sin perder su propia estabilidad (4).

Actualmente la investigación de antioxidantes naturales de origen vegetal es de gran interés para la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. La incidencia del cáncer puede ser disminuida con la ingesta de extractos vegetales con actividad antioxidante. Entre los fitoquímicos se encuentran compuestos fenólicos que protegen al organismo contra especies reactivas de

oxígeno (EROS) y radicales libres implicados en la génesis del estrés oxidativo, los cuales causan enfermedades crónicas como el cáncer (5).

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos de hojas de *Laportea aestuans* L. “ishanga colorada” y del extracto de hojas de *Mangifera indica* L. “mango chico rico” por 1,1-difeni-2-picril-hidrazilo – DPPH.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Banchón, B. et al. (2018), en su investigación “Cuantificación de manguiferina en diferentes variedades de mango (*Mangifera indica* L.) de exportación en el Ecuador”, determinaron los contenidos de mangiferina en la corteza de tres variedades de mango de exportación: Tommy Atkins (Ta), Haden (Hd) y Edward (Ed). La metodología utilizada consistió en que el material vegetal lo sometieron a un desengrasado con n-hexano antes de la extracción por Soxhlet con metanol como disolvente. Los extractos metanólicos fueron comparados en cuanto a rendimiento de sólidos solubles, concentración de fenoles totales y contenido de mangiferina por UHPLC-MS. Los resultados obtenidos mostraron que la variedad Ta presentó los mayores contenidos de sólidos solubles con 2,42%. Concluyeron que la mayor concentración de fenoles totales (346,20 mg/mL expresado como equivalente de ácido gálico) y de contenido de mangiferina (15,66 g/100 g de corteza) la obtuvieron en la variedad Ed (6).

Zapata, M. et al. (2018), en su estudio “Comportamiento de compuestos bioactivos y antioxidantes. Actividad del jugo de mango durante almacenamiento a 4°C”, evaluaron el efecto del tiempo de almacenamiento y la temperatura sobre el contenido de polifenoles, contenido de ácido ascórbico y actividad antioxidante del jugo de mango cv. azúcar almacenado durante 64 días a 4°C. Como metodología para el contenido de polifenoles totales utilizaron el método Folin-Ciocalteu, la mangiferina y el ácido ascórbico los determinaron por HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) y la actividad antioxidante la determinaron por Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) y ABTS•+(2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) ácido). En sus resultados el contenido fenólico total disminuyó después de 16 días de almacenamiento del jugo; los valores de ácido ascórbico no mostró diferencias significativas hasta 48 días de almacenamiento y el contenido de mangiferina fue casi constante durante todo el tiempo de almacenamiento. La actividad antioxidante

determinada por el método ORAC fue constante hasta el final del almacenamiento. Sin embargo, el valor de ABTS disminuyó después de 32 días de almacenamiento del jugo. Concluyeron que el almacenamiento hasta 32 días del jugo de mango a 4°C no alteró su actividad antioxidante ni su contenido de ácido ascórbico (7).

Oloyede, G. et al. (2013), en su trabajo “Chrysen-2-ol derivative from west indian wood nettle *Laportea aestuans* (L.) Chew inhibits oxidation and microbial growth *in vitro*”, aislaron y caracterizaron compuestos bioactivos en n-hexano de la fracción de *L. aestuans*. Determinaron su toxicidad y su acción antimicrobiana frente a antimicrobianos *in vitro* y actividades de barrido de radical libre. Para determinar los componentes químicos utilizaron como metodología la columna de elución en gradiente, técnica cromatográfica y ultravioleta/visible (UV), infrarroja (IR) y resonancia nuclear magnética (RNM). La actividad de barrido del radical libre del aislado la evaluaron utilizando tres métodos: efecto de barrido en radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), radical hidroxilo generado a partir de hidrógeno (Método de peróxido) y tiocianato férrico. En sus resultados obtuvieron un rendimiento porcentual del 91,2% para el criseno-2-ol (AC) y un $CL_{50}=1581233000,0$ ug/mL, considerándolo como no tóxico; asimismo un valor de 0,0625 mg/mL como barrido de radical libre en las pruebas DPPH con 64,73% y peróxido de hidrógeno con 99,22%. También encontraron un 65,23% de inhibición a 1,0 mg/mL en la prueba de tiocianato férrico. AC también mostró inhibición del crecimiento microbiano de forma significativa en comparación con gentamicina y tioconazol, respectivamente. Concluyeron que la presencia del derivado de chrysen-2-ol en *L. aestuans* no era tóxico y poseía importantes actividades antimicrobianas y antioxidantes para su aplicación etnomedicinal (8).

Hernández, J. et al. (2013), en su estudio “Actividad antioxidante de lámina flexible de mango (*Mangifera indica*)”, evaluaron la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles totales en láminas flexibles de mango cv. *Tommy Atkins* cultivados en el municipio Mara del estado Zulia. En sus resultados la actividad antioxidante de la lámina fue

0,38±0,02 mM TROLOX/100g y 81,57±0,76 vitamina C/100 g. El contenido de polifenoles totales en la lámina fue de 76,81±2,67 mg GAE/100 g. Concluyeron que las láminas flexibles aportan una mayor cantidad de compuestos polifenólicos totales (9).

1.2. Bases teóricas

1.2.1 Especies en estudio

A) *Laportea aestuans* L. “ishanga colorada”

Identificación taxonómica

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Orden : Urticales
Familia : Urticaceae Juss.
Género : *Laportea*
Especie : *Laportea aestuans* L. (10).



Descripción botánica: se desarrolla en forma arrastrante, tapizante, alcanzando cada planta unos 30 cm de longitud. Presenta tricomas urticantes dispersos. Sus hojas son simples, alternas, con lámina entera, trinervada, con márgenes dentados; contienen cristales de oxalato de calcio que puede causar irritaciones en la piel. Inflorescencias en cimas o glomérulos arreglados en estructuras paniculiformes, axilares. Los frutos son aquenios asimétricos (11).

Usos etnomédicos y modo de empleo: La medicina tradicional atribuye a la infusión de las hojas, propiedades como diuréticas y laxantes. El jugo de las hojas se usa contra la conjuntivitis y en general como bactericida y antiinflamatorio.

Distribución geográfica: México, Las Antillas, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela y Bolivia; Camerún, Madagascar y Tanzania.

B) *Mangifera indica* L. “mango chico rico”

Identificación taxonómica

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Sapindales
Familia	: Anacardiaceae
Género	: <i>Mangifera</i>
Especie	: <i>Mangifera indica</i> L. (11)



Descripción botánica: árbol siempre verde de copa densa que puede alcanzar los 20 m de altura (puede superar los 30 m de altura). Tronco grueso de corteza negruzca con látex resinoso. Hojas alternas, simples, coriáceas, de lanceoladas a oblongas, de 15 a 30 cm de longitud, de color verde oscuro. Inflorescencias piramidales terminales. Flores polígamas de pequeño tamaño, de color verde amarillento, con 4 a 5 sépalos y pétalos. Flores masculinas con 4 a 5 estambres, de los cuales sólo 1 o 2 son fértiles y de mayor tamaño. Flores femeninas con ovario globoso y un estilo. Fruto drupa variable en forma y dimensiones, aunque por norma general es ovoide-oblonga, con los extremos algo aplanados, desde 4 a 25 cm de longitud y de color verde, verde amarillento o anaranjado en la madurez, incluso con tintes morados o rojos en algunas variedades. La pulpa del fruto es amarilla o anaranjada y jugosa, con fibrosidades (10).

Cultivos y usos: se multiplica por semillas. Requiere suelos fértiles y climas suaves. El fruto es rico en vitamina A y muy apreciado en los países tropicales. Se consume fresco y con él se elaboran conservas dulces. En América Central se utiliza una decocción de las semillas para eliminar parásitos intestinales, y la infusión de la corteza se utiliza como laxante y febrífugo. Su madera se emplea para embalajes y carpintería local (10).

1.2.2 Actividad antioxidante

Los antioxidantes son sustancias con capacidad de inhibir o prevenir la oxidación de otras moléculas. Operan en contra de los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación. Los principales antioxidantes presentes en cada una de las plantas son compuestos fenólicos: ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, isoflavonoides, estilbenos, lignanos y polímeros fenólicos. Dentro de este grupo, los flavonoides y antocianinas muestran mayor capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndosele así efecto beneficioso en prevención de enfermedades cardiovasculares, cancerígenas y neurológicas; además de poseer actividad antiinflamatoria, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica (11,12).

Diversos compuestos cromógenos, como: Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS, del inglés 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH, del inglés 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl), N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD, del inglés N,N-dimethyl-p-phenylenediamine), N-óxido de 5,5-dimetil-1-pirrolina (DMPO, del inglés 5,5-Dimethyl-1-pyrroline-N-oxide) y el Poder antioxidante de la reducción férrica (FRAP, del inglés Ferric ion reducing antioxidant power); son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos para captar radicales libres generados, que implican a especies reactivas de oxígeno (11).

Una de las técnicas *in vitro* más aplicadas, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical. La pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. No obstante, la determinación de la capacidad

antioxidante realizadas *in vitro* nos brinda tan sólo una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo* (11).

El método con DPPH es simple y rápido, el DPPH presenta un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa; mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato de potasio, Agonistas beta de acción prolongada o ABAP), enzimática (peroxidasa, mioglobulina) o eletroquímica. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico. El radical ABTS tiene la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, mientras que el DPPH presenta un pico de absorbancia a 517 nm (11).

1.2.3 Ensayo con 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo -- DPPH

El uso del ensayo del efecto bloqueador de radicales libres de DPPH, es un método utilizado regularmente para evaluar la capacidad de los antioxidantes para secuestrar radicales libres. La absorbancia a 517 nm disminuye a medida que ocurre la reacción entre las moléculas antioxidantes y los radicales de DPPH. Así, cuanto más rápidamente decrece la absorbancia, mayor será la actividad antioxidante del extracto en estudio (13).

La molécula DPPH es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres.

La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta se desvanece. El cambio

de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros y propiedades antioxidantes (14).

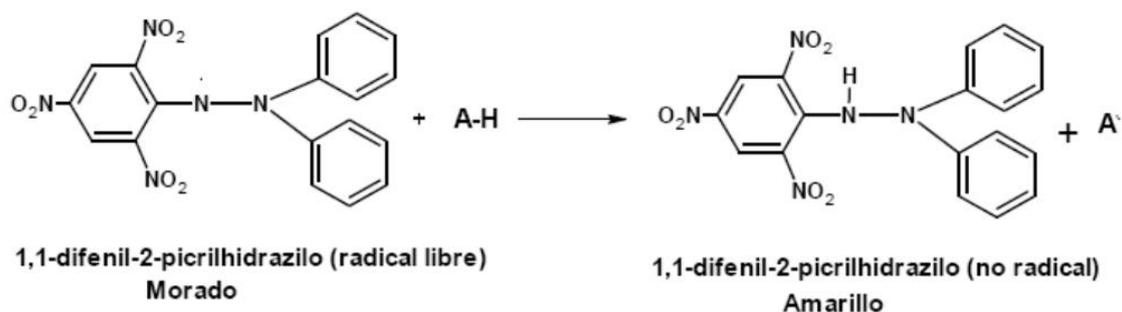


Figura 1. DPPH antes y después de su reacción con el compuesto antioxidante.

Fuente: Ohja (2012)

1.3. Definición de términos básicos

- Antioxidante: Sustancia que impide la formación de óxidos (16).
- Radicales libres: son moléculas inestables que recorren nuestro cuerpo intentando robar un electrón con vistas a recuperar su inestabilidad (17).
- Estrés oxidativo: es el proceso de deterioro celular dependiente de la producción de radicales libres (18).
- IC₅₀: La concentración inhibitoria media máxima (IC₅₀) es una medida de la potencia de una sustancia para inhibir una función biológica o bioquímica específica. Es una medida cuantitativa que indica qué cantidad de una sustancia inhibidora particular (por ejemplo, un fármaco) se necesita para inhibir, in vitro, un proceso biológico o componente biológico dado en un 50% (19).
- Especies reactivas de Oxígeno: Son generalmente moléculas muy pequeñas altamente reactivas debido a la presencia de una capa

de electrones de valencia no apareada (20).

- Enfermedades degenerativas: es una afección generalmente crónica durante la cual tiene lugar un proceso continuo basado en cambios degenerativos en las células, en la cual la función o la estructura de los tejidos u órganos afectados empeoran con el transcurso del tiempo (21).
- Regresión lineal: En estadística la regresión lineal o ajuste lineal es un modelo matemático usado para aproximar la relación de dependencia entre una variable dependiente, las variables independientes (22).

CAPITULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de la hipótesis

Las hojas de *Laportea aestuans* L. y *Mangifera indica* L. presentan actividad antioxidante *in vitro* por el método 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo -- DPPH.

2.2. Variables y su operacionalización

Variable independiente

Extracto metanólico de hojas de *Laportea aestuans* L. y *Mangifera indica* L.

Indicador: concentración de extractos metanólicos: 4 mg/mL, 8 mg/mL, 16 mg/mL, 32 mg/mL y 50 mg/ml.

Variable dependiente

Actividad antioxidante *in vitro*.

Indicador: capacidad de inhibición de radicales libres al 50%.

Operacionalización de variables

Variable independiente	Definición operacional	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Medio de verificación
Extracto metanólico de hojas de <i>L. aestuans</i> L. y <i>M. indica</i> L.	Material vegetal seco micropulverizado, se adiciona metanol, sometida a maceración por 7 días, filtrado, concentrado en rota vapor a 40° C y a 40 rpm, la misma que se colocará en una estufa a 40°C hasta sequedad y su posterior utilización en los ensayos hasta sequedad para su posterior utilización en los ensayos.	Cuantitativa	Concentración de extractos metanólicos	Razón	Hoja de reporte analítico.
Variable dependiente	Definición operacional	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Medio de verificación
Actividad antioxidante <i>in vitro</i> .	Ensayo para determinar capacidad antioxidante que presentan extractos de especies vegetales. Para la lectura se utilizaron cubetas de poliestireno de 1,5 mL de capacidad, donde se agregó 0,975 mL de DPPH a concentración de 0,1 mM y 0,025 mL de extractos vegetales y en otra cubeta se agregó 1 mL de metanol puro (blanco).	Cuantitativa	Inhibición de radicales libres al 50%	Razón	Hoja de reporte analítico

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño

Tipo de estudio: correlacional, porque se realizó comparaciones de la variable dependiente entre los grupos experimentales y de control.

Diseño: experimental, porque se recopiló y analizó los datos obtenidos de distintas fuentes con intervención del investigador, se controló deliberadamente las variables para delimitar relaciones entre ellas a fin de medir los resultados de manera concluyente.

3.2. Diseño muestral

Población: está constituida por las especies *Laportea aestuans* L. y *Mangifera indica* L. del Centro Poblado de Quistococha.

Muestra: 2 Kg de hojas de ambas especies.

Muestreo o selección de la muestra: fueron colectadas por conveniencia en el centro poblado de Quistococha.

Criterios de selección: se incluyó material vegetal identificado en buen estado de conservación.

3.3. Procedimientos de recolección de datos

A. Obtención del material botánico

Colecta de especies vegetales: comenzó desde su ubicación en el Centro Poblado de Quistococha, tomando datos geo-referenciados del lugar donde fueron ubicadas (3°49'13"S y 73°19'42"O). Se utilizaron tijeras podadoras y telescópicas, se cortó la cantidad de 2 Kg de hojas. Se colocaron las muestras en sobres de manila debidamente rotuladas, en las que se mantuvieron hasta su llegada al Laboratorio de

Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

Preparación y limpieza de muestras vegetales: se limpiaron y cortaron las hojas en pequeños fragmentos. Se elaboraron las exsiccatas de hojas de cada una de las especies vegetales para su posterior identificación y certificación en el Herbario Amazonense - UNAP.

Certificación de la especie vegetal: el Herbarium Amazonense de la UNAP, certificó la especie vegetal y entregó una constancia con su respectivo código de identificación.

Secado y micropulverizado de las muestras vegetales: se trasladó a un ambiente de secado con un equipo deshumecedor a una temperatura de 40°C durante una semana. Después, se realizó la molienda (empresa "Chacruna"), quedando las muestras en polvo (micropulverizado). El micropulverizado se guardó en frascos de color ámbar para su posterior uso en los diferentes ensayos.

Preparación de los extractos vegetales: de cada una de las muestras preparadas, se pesó 5 g que fue diluido en 80 mL de metanol puro, dejando macerar durante 7 días en refrigeración a 8°C; para lo cual se utilizó frascos de color ámbar. Transcurrido el tiempo, se filtró; la solución obtenida se enrasó a 100 mL con metanol, obteniéndose una concentración de 50 mg/mL (Solución Madre). A partir de esta solución, se diluyó a concentraciones menores: 4 mg/mL, 8 mg/mL, 16 mg/mL y 32 mg/mL.

B. Determinación de la actividad antioxidante *in vitro*:

Se realizó por el método de DPPH con pureza del 99.9%, siguiendo la metodología de Villaño *et al*, (2007) (23).

Preparación de la solución DPPH: se pesó 3,9 mg de DPPH (394,32 g/mol de peso molecular) y se enrasó a 10 mL con metanol puro, el cual

fue homogenizado utilizando el equipo ultrasónico; obteniéndose una solución stock de 1 mM de DPPH. A partir de esta solución, se preparó la solución de trabajo: 0,1 mM de DPPH, para lo cual se diluye 1 mL de la solución stock hasta enrasar a 10 mL con metanol.

Lectura en el espectrofotómetro: se utilizó cubetas de poliestireno de 1,5 mL de capacidad, donde se agregó 0,975 mL de DPPH a una concentración de 0,1 mM y 0,025 mL de los extractos de cada concentración; en otra cubeta se agregó 1 mL de metanol puro (blanco). Las lecturas de las absorbancias se realizaron en un espectrofotómetro UV/Vis de marca Genesys a una longitud de onda de 517 nm. Cada absorbancia fue leída a intervalos de 30 segundos durante 5 minutos.

Porcentaje de inhibición del DPPH: indica el porcentaje de Inhibición del radical DPPH, por un agente antioxidante; en este caso, por los extractos vegetales de cada una de las concentraciones evaluadas, empleando la siguiente formula:

$$(\%Inh\ DPPH) = \frac{Abs\ control - Abs\ muestra}{Abs\ control} \times 100$$

Dónde: Abs control es la absorbancia del DPPH• sin el extracto

Abs muestra es la absorbancia del DPPH• con el extracto.

Instrumento: Hoja de reporte analítico

Concentración Media Inhibitoria (IC₅₀): cantidad de muestra que se necesita para capturar radicales DPPH en un 50%. Así, un menor valor indica una mayor capacidad antioxidante, porque requiere menos muestra para inhibir un 50% de radicales DPPH. Se calculó mediante la ecuación de la recta siguiente:

$$y = a \ln(x) + b$$

Donde: y= es la ecuación de la recta

a, b = valores obtenidos por análisis de regresión, concentración vs. % de Inhibición. ln (x) = inversa de la función exponencial.

3.4. Procesamiento y análisis de la información

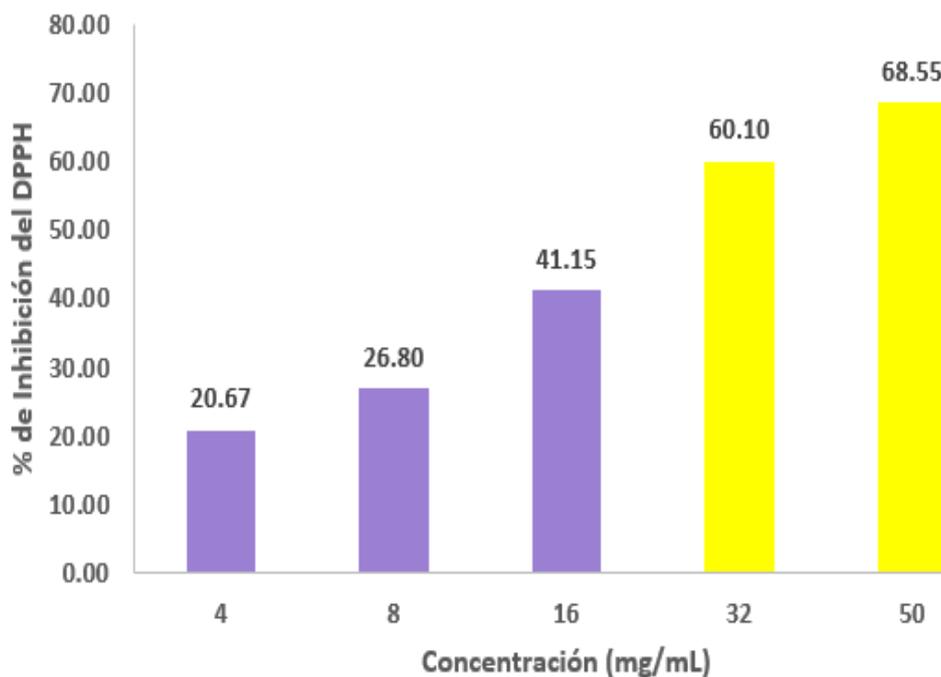
Los datos fueron agrupados y presentados en tablas; se expresaron en valores medios \pm desviación estándar. Para determinar las diferencias entre los diferentes tratamientos se realizaron los respectivos análisis de varianza a los parámetros evaluados de los extractos vegetales.

3.5. Aspectos éticos

Se tomó en cuenta las normas éticas del Instituto Nacional de Salud, reconociendo que las decisiones relativas a las cuestiones éticas relacionadas con la medicina, la ciencia de la vida y las tecnologías conexas pueden tener repercusiones en los individuos, familias, grupos o comunidades y en la especie humana en su conjunto.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

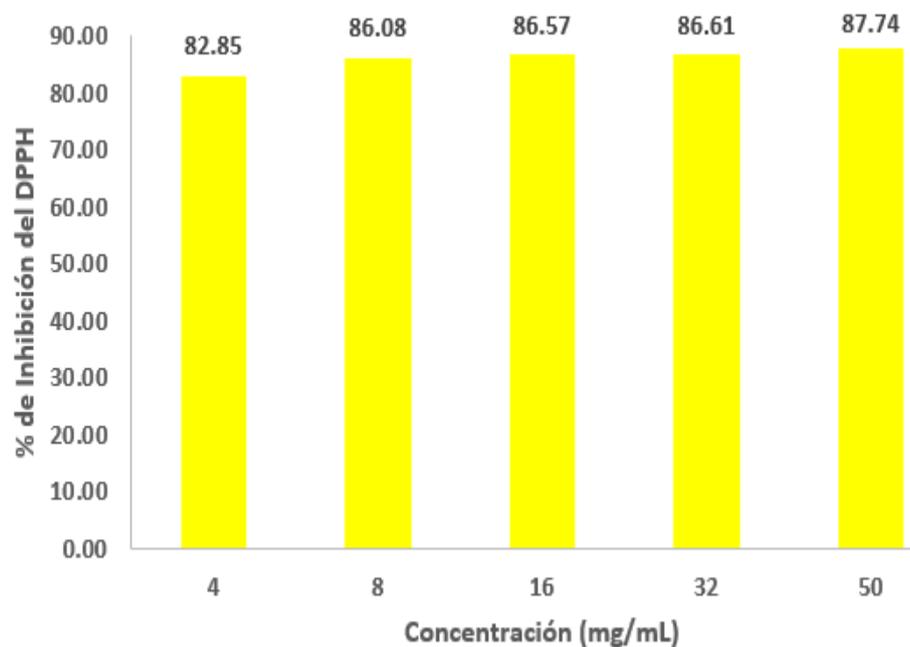
Actividad Antioxidante *in vitro*



Fuente: elaboración propia

Figura 2. Porcentajes de inhibición del radical DPPH por el extracto de hojas de *Laportea aestuans* L. “ishanga colorada”

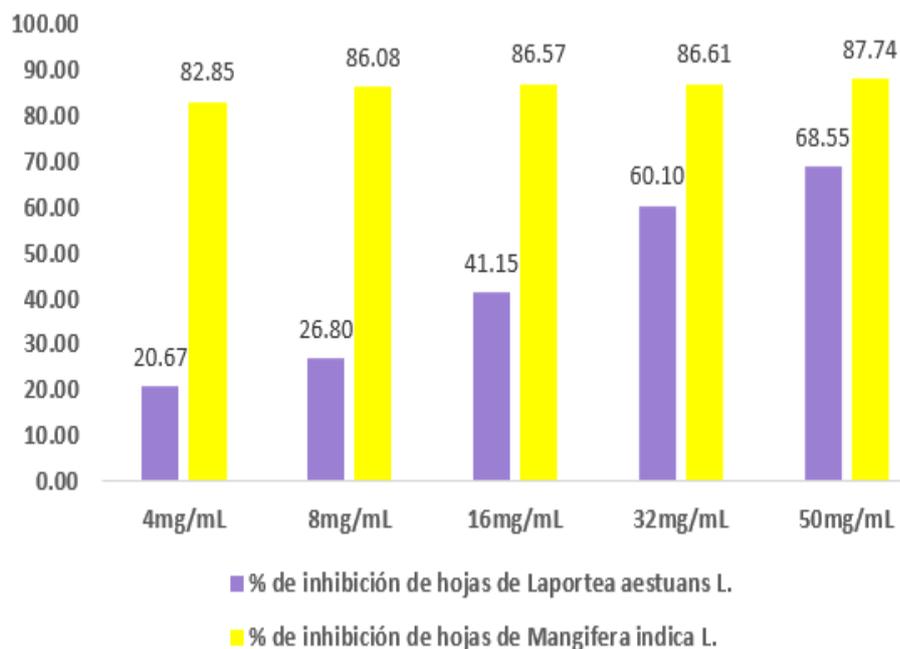
Muestra el porcentaje de inhibición al radical DPPH por el extracto de hojas de *Laportea aestuans* L. “ishanga colorada”, observándose que a la concentración del extracto a 4 mg/mL presenta un porcentaje de inhibición del 20,67%; a 8 mg/mL, 26,80%; a 16 mg/mL, 41,15%; a 32 mg/mL, 60,10%; y a 50 mg/mL, un 68,55%.



Fuente: elaboración propia

Figura 3. Porcentaje de Inhibición del radical DPPH por el extracto de hojas de *Mangifera indica* L. “mango chico rico”

Muestra el porcentaje de inhibición al radical DPPH por el extracto de hojas de *Mangifera indica* L. “mango chico rico”, observándose que a 4 mg/mL de concentración presenta un porcentaje de inhibición del 82,85%; a 8 mg/mL, 86,08%; a 16 mg/mL, 86,57%; a 32 mg/mL, 86,61%; y a la concentración de 50 mg/mL, 87,74%.



Fuente: elaboración propia

Figura 4. Porcentaje de Inhibición del radical DPPH• entre los grupos de estudio por cada concentración evaluada

Se observa que las hojas de *Laportea aestuans* L. “ishanga colorada” a las concentraciones de 32 y 50 mg/mL, presentaron los mayores valores (mayores al 50%), con el 60,10% y 68,55%, respectivamente; mientras que las hojas de *Mangifera indica* L. “mango chico rico” a todas las concentraciones evaluadas, presentaron valores mayores al 50% de porcentaje de inhibición, con el 82,85%, 86,08%, 86,57%, 86,61% y 87,74%, respectivamente.

Tabla 1. Porcentaje de Inhibición de las especies vegetales en estudio al radical DPPH• a la concentración de 50 mg/mL

Especie vegetal	Parte usada	% Inhibición ± DesVest Extracto metanólico
<i>Laportea aestuans</i> L.	Hojas	68,55 ± 20,67
<i>Mangifera indica</i> L.	Hojas	87,74 ± 1,85

Fuente: elaboración propia

Se muestran los porcentajes de inhibición obtenidos de las dos especies vegetales a la mayor concentración (50 mg/mL). El extracto metanólico de hojas de *M. indica* L. presenta 87,74% de inhibición con una desviación estándar de ±1,85 siendo el valor más alto en porcentaje de inhibición a radicales libres producidos por el reactivo DPPH y *L. aestuans* L. con 68,55% de inhibición con una desviación estándar de ±20,67.

Tabla 2. Descriptivo de los grupos de estudio según porcentaje de inhibición DPPH

Grupos de estudio	N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
<i>Laportea aestuans</i> L.	5	43,45	20,67	17,79	69,12	20,67	68,55
<i>Mangifera indica</i> L.	5	85,97	1,85	83,68	88,26	82,85	87,74

Fuente: elaboración propia

Se observa los estadísticos de los grupos de estudio – Porcentaje de inhibición DPPH, donde el extracto de hojas de *Laportea aestuans* L. obtuvo un 68,55 de porcentaje de inhibición al radical DPPH, con una desviación estándar de 20,67; mientras que *Mangifera indica* L. fue de 87,74 de porcentaje de inhibición al radical DPPH, con una desviación estándar de 1,85. Asimismo, se observa para cada grupo los respectivos intervalos de confianza al 95%.

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas – porcentaje de inhibición DPPH

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
14,888	1	8	0,005

Fuente: elaboración propia

Aplicando el programa SPSS versión 22, se muestran los resultados de la prueba de Levene, determinándose que dichas muestras no presentan varianzas homogéneas, con un valor sig = 0,005.

Tabla 4. Análisis de varianza de grupos de estudio - porcentaje de inhibición DPPH

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4519,026	1	4519,026	20,990	0,002
Dentro de grupos	1722,322	8	215,290		
Total	6241,348	9			

Fuente: elaboración propia

Aplicando el programa SPSS versión 22, se determinó que sig.=0,002, siendo menor que $\alpha=0,05$; observándose que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio según el porcentaje de inhibición del DPPH, es decir, que los grupos producen diferente porcentaje de inhibición.

Tabla 5. Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio – porcentaje de inhibición DPPH

Grupo	Kolmogorov - Smirnov ^c		
	Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje de inhibición	0,255	5	0,066 ^c

c. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: elaboración propia

En la tabla 5, aplicando el programa SPSS versión 22 y la prueba de Kolmogorov – Smirnov, se observa que todos los grupos presentan normalidad, luego de comparar el valor de la sig = 0,066 (6,6%) mayor que el valor de $\alpha = 0,05$ (5%). El análisis de normalidad permite realizar pruebas paramétricas.

Tabla 6. Cálculo de IC₅₀ a partir de la ecuación obtenida con su respectivo R²

Especie vegetal	Ecuación	R ²	IC ₅₀
<i>Laportea aestuans</i> L. – Hojas	$y = 19,971\ln(x) - 10,932$	0,9733	21,14mg/mL
<i>Mangifera indica</i> L. – Hojas	$y = 1,6112\ln(x) + 81,581$	0.7908	2,93 mg/mL

Fuente: realización propia

La Tabla 6 muestra los valores de IC₅₀ de las especies vegetales estudiadas, en la que se evidencia que *Mangifera indica* L. – Hojas, en comparación con *Laportea aestuans* L. – Hojas, mostró un mejor resultado en cuanto al IC₅₀, debido a que obtuvo el menor valor (2,93 mg/mL), lo que indica que a esta concentración inhibe un 50% al radical DPPH•.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación, se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* de las hojas de *Laportea aestuans* L. “ishanga colorada” y *Mangifera indica* L. “mango chico rico” por 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo -- DPPH. Las dos especies vegetales evaluadas presentaron inhibición al radical DPPH•, resaltándose la concentración de 50 mg/mL con un 87,74% para *Mangifera indica* L. y *Laportea aestuans* L. con 68,55%, presentando un porcentaje de actividad antioxidante superior al 25%. Esto guarda relación con el estudio de Oloyede G *et al* en su trabajo “Chrysen-2-ol derivative from west indian wood nettle *Laportea aestuans* (L.) Chew inhibits oxidation and microbial growth *in vitro*”, quienes aislaron y caracterizaron compuestos bioactivos en n-hexano de la fracción de *L. aestuans*, determinando el barrido de radical libre utilizando como metodología tres métodos: efecto de barrido en radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), radical hidroxilo generado a partir de hidrógeno (Método de peróxido) y tiocianato férrico. En sus resultados obtuvieron un valor de 0,0625 mg/mL como barrido de radical libre en las pruebas DPPH con 64,73% y peróxido de hidrógeno con 99,22%; también, un 65,23% de inhibición a 1,0 mg/mL en la prueba de tiocianato férrico. (8).

Con el presente estudio se obtuvo valores de $IC_{50} = 21,14$ mg/mL para hojas de *Laportea aestuans* L. e $IC_{50} = 2,93$ mg/mL para hojas de *Mangifera indica* L., lo que concuerda con el estudio de Zapata, M. *et al.* (2018) (7) en su trabajo “Comportamiento de compuestos bioactivos y antioxidantes, del jugo de mango, determinando su actividad antioxidante mediante el método ORAC. El valor de ABTS disminuyó después de 32 días de almacenamiento del jugo, concluyendo que el almacenamiento hasta 32 días de jugo de mango a 4 °C no alteró su actividad antioxidante y el contenido de ácido ascórbico.

También se relaciona con el estudio de Hernández, J. *et al* (2013) sobre la “Actividad antioxidante de lámina flexible de mango (*Mangifera indica*)”, quienes concluyeron que la actividad antioxidante de la lámina fue $0,38 \pm 0,02$ mM TROLOX/100g (9).

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- El extracto metanólico de hojas de *Mangifera indica* L. - Hojas, presentó mejor porcentaje de inhibición al radical DPPH• en la concentración de 50 mg/mL con un 87,74%, la misma que se diferencia de *Laportea aestuans* L. - Hojas con 68,55%.
- Los valores de $IC_{50} = 21,14\text{mg/mL}$ obtenido para hojas de *Laportea aestuans* L. - Hojas e $IC_{50} = 2,93\text{mg/mL}$ para *Mangifera indica* L. permite concluir que las hojas de ésta última especie vegetal presenta menor IC_{50} , identificándose así como el de mejor actividad antioxidante *in vitro*.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- En relación con las especies investigadas, se recomienda fomentar otros estudios tales como: actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antihiperglicemiante y otras, a fin de contribuir a su aprovechamiento sostenible, dando así un valor agregado a las mismas.
- Que, se efectúen estudios toxicológicos de las mencionadas especies en estudio.
- Que, se efectúen estudios en otros órganos de las especies tratadas, respecto a su actividad antioxidante.
- Que, en función de la biodiversidad en nuestra Amazonía, continuar la realización de investigaciones para ampliar el conocimiento de las plantas medicinales.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

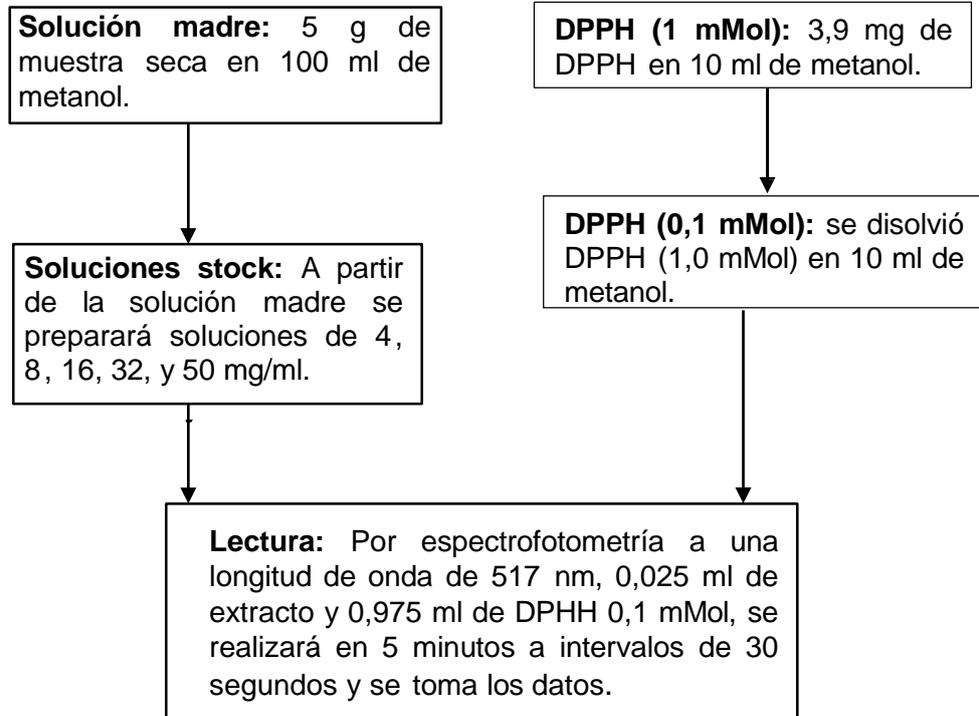
1. Halliwell B. SC. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 1993. May; 57(5)(724-725).
2. Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J. Nutr.* 2003 Mar; 133(3)(933S-940S).
3. Pereira M. , Steffens R. , Jablonski A. , Hertz P. , De O Rios A. , Vizzotto M., Flores S. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. *J. Agric. Food Chem.* 2012. Mar; 60 (12)(3061-3067).
4. Halliwell B., Gutteridge J. , Cross C. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?. *J. Lab. Clin. Med.* 1992. Jun; 119 (6)(598-620).
5. Jayadev R., Chintalapally V. Rao. Diosgenin, a Steroid Saponin Constituent of Yams and Fenugreek: Emerging Evidence for Applications in Medicine [Online].; 2012 [citado 24 Setiembre 2020. Disponible en: https://cdn.intechopen.com/pdfs/25787/InTech-Diosgenin_a_steroid_saponin_constituent_of_yams_and_fenugreek_emerging_evidence_for_applications_in_medicine.pdf.
6. Banchón Franco BL, Palma Benavides JE. Cuantificación de mangiferina en diferentes variedades de Mango (*Mangifera indica* L.) de exportación en el Ecuador. [Tesis de grado para optar el título de Químicos y Farmacéuticos]. Guayaquil - Ecuador: Universidad de Guayaquil (2018). Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/33577> Fecha de acceso: 15 Noviembre, 2019.
7. Zapata, M. Behavior of bioactive compounds and antioxidant activity of Mango (azúcar cultivar) juice during storage at 4 °C. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* [Internet]. 2019 [citado 7 noviembre 2019] 72 (1), 8743-8750.
8. Oloyede G, Oyelola M. Chrysen-2-ol derivative from west indian wood nettle *Laportea aestuans* (L.) Chew inhibits oxidation and microbial growth in vitro. *EXCLI Journal* [Internet]. 2013 [citado 7 noviembre 2019] 12: 894-906.

9. Hernández J., Moncayo A., Fernández V.; Sulbarán B. Actividad antioxidante de lámina flexible de mango (*mangifera indica*). Revista de la Sociedad Química del Perú. 2013; 79 (2).
10. Davidse, G., Sousa M., Sánchez S. Knapp & F. Chiang Cabrera. Saururaceae a Zygophyllaceae. Fl. Mesoamer [Internet] 2015. [citado 7 noviembre 2019] V-XVII, 1-347.
11. Jorgensen, P. M., Nee M. & Beck S. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. [Internet] 2014. [citado 10 diciembre 2019] 127(1-2): I-VIII, 1-1744.
12. Delgado, L., & Martínez, G. El estrés oxidativo en la enfermedad cardiovascular: evidencias para un tratamiento más integral. Revista Cubana de Farmacia. [Internet] 2009 [citado 17 noviembre 2019] 43 (1).
13. Chiou, A.; Karathanos, V.T.; Mylona, A.; Salta, F.N.; Preventi, F.; Andrikopoulos, N.K., 2007. Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolic and antioxidant activity. Food Chem., 102, 516-522.
14. Violeta Alvarez-Quiroz, Laura Caso-Barrera, Mario Aliphath-Fernández & Angel Galmiche-Tejeda. Plantas medicinales con propiedades frías y calientes en la cultura Zoque de Ayapa, Tabasco, México. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (2017), 16(4): 428-454 ISSN 0717 7917. Disponible en: http://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo_7_-_1293_-_428_-_454_0.pdf Fecha de acceso: 23 Agosto 2019
15. Ojha H., Mishra K., Chaudhury N.K., 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. Food Chemistry; 130: 1036-1043.
16. Delgado L. & Martínez G. El estrés oxidativo en la enfermedad cardiovascular: evidencias para un tratamiento más integral. Revista Cubana de Farmacia. [Internet] 2009 [citado 17 noviembre 2019] 43(1).
17. Alvarez V., Caso L., Aliphath M. & Galmiche A. Plantas medicinales con propiedades frías y calientes en la cultura Zoque de Ayapa, Tabasco, México. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (2017),16(4): 428-454 ISSN 0717 7917. Disponible en: http://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo_7_-_1293_-_428_-_454_0.pdf Fecha de acceso: 23 Agosto 2019

18. Orjuela-Baquero N., Hernandez M., Carrillo M., Fernandez J. Diversity of roots and tubers cultivated in traditional chagras from the Colombian Amazon. *Acta horticulturae* (2016), 1118 pp. 95-102. Disponible en: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/5592368> Fecha de acceso: 8 Agosto 2019
19. Cheng Y, Prusoff WH. "Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I_{50}) of an enzymatic reaction". (1973) *Biochem Pharmacol.* 22 (23): 3099–108.
20. Krötz F., Sohn HY., Gloe T., Zahler S., Riexinger T., Schiele T., Becker, B., Theisen K., Klauss V., Pohl U. (2002) NAD(P)H oxidase-dependent platelet superoxide anion release increases platelet recruitment, *Blood*, 100, 917-924
21. Pilco M., Sifuentes J. Valor nutricional de las especies vegetales *Calathea allouia* (dale dale) y *Dioscorea trifida* (sachapapa morada). [Tesis de grado para optar el título de Licenciado en Bromatología y Nutrición humana]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (2014). Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3686/Mack_Tesis_Titulo_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y Fecha de acceso: 23 Agosto 2019
22. Kalpna R., Mital K. & Sumitra Ch. Vegetable and fruit peels as a novel source of antioxidants. *Journal of Medicinal Plants Research*, [Internet] 2011. [citado 7 noviembre 2019] 5(1), 61-71.
23. Villaño D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso AM, García-Parrilla MC. Radical Scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* [Internet] 2007 [citado 17 noviembre 2018]: 230-235.

ANEXOS

Anexo 1: Diagrama de flujo de la determinación de la actividad antioxidante en especies vegetales.



Anexo 2: Constancia de certificación de la especie vegetal



Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA n.º 12-2020-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana

HACE CONSTAR:

Que, las muestras botánicas presentada por **SALOMÉ MARINA ESCALANTE RENGIFO**, bachiller de la **Facultad de Farmacia y Bioquímica** de la **Universidad Nacional de la Amazonía Peruana** pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado "**Actividad antioxidante *in vitro* de hojas de *Laportea aestuans* L. y *Mangifera indica* L. por el método de 1,1 -DIFENIL - 2 PICRIL - HIDRAZILO - DPHH**" han sido **DETERMINADAS** en este Centro de Investigación y Enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ** del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la **UNAP-CIRNA-UNAP** como se indica a continuación:

N°	FAMILIA	ESPECIE
01	URTICACEAE	<i>Laportea aestuans</i> (L.) Chew
02	ANACARDIACEAE	<i>Mangifera indica</i> L.

Determinador: Ing. Forestal Juan Celidonio Ruiz Macedo

A los siete días del mes de setiembre del dos mil veinte, se expide la presente constancia a la interesada para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard Huaranca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



Anexo 3: Proceso de la parte experimental de la tesis

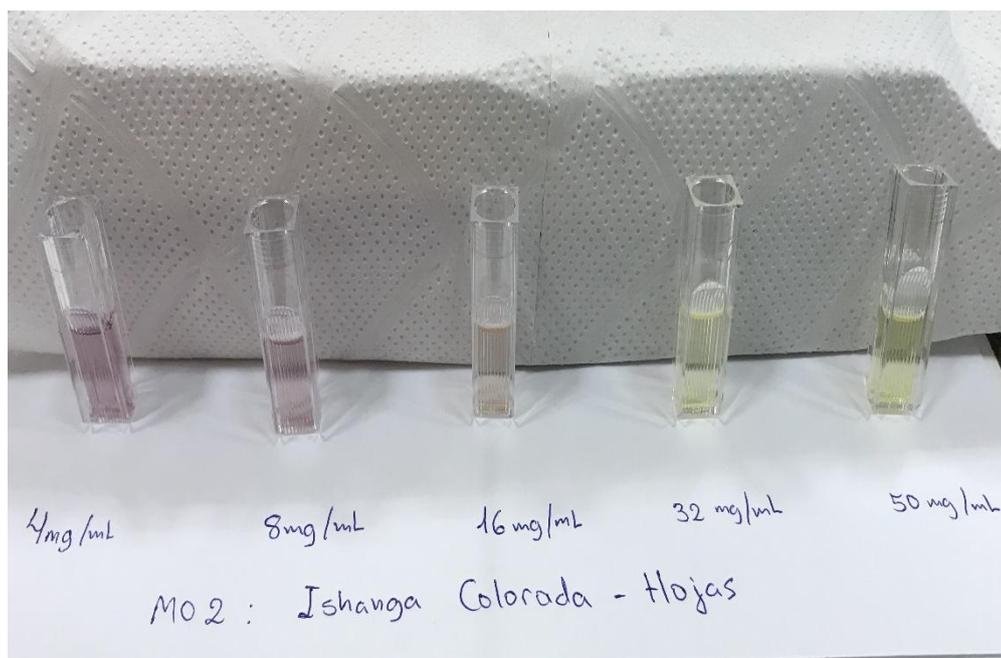


a. Proceso de filtración.



b. Lectura en el espectrofotómetro.

Anexo 4: Cubetas con extracto metanólico de *Laportea aestuans* L., después de su lectura en espectrofotómetro UV-visible



Anexo 5: Cubetas con extracto metanólico de *Mangifera indica* L., d su lectura en espectrofotómetro UV-visible



Anexo 6: Imagen del reactivo DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)



ANEXO 7. Espectrofotómetro UV/Vis marca Genesys 10S

