



UNAP



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

TESIS

**DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE LA RAÍZ DE *Smilax
cumanensis***

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

PRESENTADO POR:

**JOAO JUNIOR ARMAS MAYTAHUARI
PIERO BRANDO VELASQUEZ PEREZ**

ASESORES:

**Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mtro.
Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, Dr.**

IQUITOS, PERÚ

2024

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°016-2024-CGT-FFyB-UNAP

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 16 días del mes de octubre del 2024, a horas 12:00, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE LA RAÍZ DE *Smilax cumanensis*" aprobada con **Resolución Decanal N°274-2024-FFyB-UNAP**, presentado por los bachilleres **Piero Brando Velásquez Pérez** y **Joao Junior Armas Maytahuari**, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante **Resolución Decanal N°216-2024-FFyB-UNAP**, está integrada por:

| | |
|---|-------------------|
| - Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra. | Presidente |
| - Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr. | Miembro |
| - Blgo. FELIPE RIOS ISERN, Mtro. | Miembro |
| - Q.F. MARIO JAVIER DE LACRUZ FLORES, Mtro. | Asesor |
| - Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, Dr. | Asesor |


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 de la tesis ha sido Aprobada con la calificación Buena

Estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Siendo las 13:30 se dio por terminado el acto Académico


Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.
Presidente


Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr.
Miembro


Blgo. FELIPE RIOS ISERN, Mtro.
Miembro


Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mtro.
Asesor


Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, Dr.
Asesor

JURADO Y ASESORES



Ing. Reyna Gladys Cárdenas Vda. de Reátegui, Dra.
CIP N° 28912
Presidente



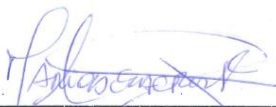
Ing. Cleto Jara Herrera, Dr.
CIP N° 63042
Miembro



Blgo. Felipe Ríos Isern
CBP N° 02694
Miembro



Ing. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, Dr.
CIP N° 45167
Asesor



Q.F. Mario Javier De la Cruz Flores, Mtro.
CQFP N° 13374
Asesor

ARMAS MAYTAHUARI / VELASQUEZ PEREZ

FFB_TESIS_ARMAS MAYTAHUARI_VELASQUEZ PEREZ.pdf

18-22NOV

My Files

Universidad Nacional De La Amazonia Peruana

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trnoid:::20208:410012872

Fecha de entrega

27 nov 2024, 9:36 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

27 nov 2024, 1:51 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

FFB_TESIS_ARMAS MAYTAHUARI_VELASQUEZ PEREZ.pdf

Tamaño de archivo

847.3 KB

33 Páginas

7,315 Palabras

40,921 Caracteres




14% Similitud general

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

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 12%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 5%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

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

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

A mis amados padres, Lindon y Luz, que con mucho sacrificio y esfuerzo lograron que cumpla mis objetivos y metas.

Joao Armas

A mis padres Ceferino Velásquez Alejandro e Ita Julia Pérez Rojas por el esfuerzo y apoyo incondicional que siempre me brindan, por inculcarme buenos valores y hacer de mi un hombre de bien, una persona íntegra ante la sociedad son mi motivo e inspiración por el cual sigo adelante en mis estudios.

Piero Velasquez

Agradecimiento

A DIOS siempre en primer lugar por todas las bendiciones y el regalo de la vida, por su amor y bondad que me ha dado la fuerza y fortaleza para seguir adelante.

A nuestros padres por el respaldo económico, apoyo y amor incondicional que nos muestran a diario, por su infinito amor y paciencia que nos permitió culminar la carrera universitaria.

A nuestros familiares por su apoyo, consejos, ánimos y recordatorios de nunca rendirnos a pesar de los problemas que se presenten en el día a día

A todas las amistades por estar presentes y que de una u otra forma nos apoyaron en la realización de los estudios.

A nuestros asesores Q.F. Mario Javier De la Cruz Flores, Mtro. e Ing. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, Dr. por brindarnos el apoyo, la motivación, las herramientas y capacidades necesarias para realizar este proyecto de investigación quienes me guiaron con sus conocimientos, paciencia y rectitud como docentes.

Índice del contenido

| | Páginas |
|---|----------------|
| Portada | i |
| Acta de sustentación | ii |
| Jurado y Asesores | iii |
| Resultado del informe de similitud | iv |
| Dedicatoria | vi |
| Agradecimiento | vii |
| Índice del contenido | viii |
| Índice de tablas | x |
| Índice de figuras | xi |
| Resumen | xii |
| Abstract | xiii |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO | 3 |
| 1.1 Antecedentes | 3 |
| 1.2 Bases teóricas | 5 |
| 1.3 Definición de términos básicos | 16 |
| CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES | 17 |
| 2.1 Formulación de hipótesis | 17 |
| 2.2 Variables y su operacionalización | 17 |
| CAPÍTULO III: METODOLOGÍA | 19 |
| 3.1 Diseño metodológico | 19 |
| 3.2 Diseño muestra | 19 |
| 3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos | 19 |
| 3.4 Procesamiento y análisis de datos | 23 |
| 3.5 Aspectos éticos | 23 |
| CAPÍTULO IV: RESULTADOS | 24 |
| CAPÍTULO V: DISCUSIÓN | 28 |
| CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES | 30 |
| CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES | 31 |
| CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 32 |
| ANEXOS | 39 |
| Anexo 1. Fotografías referidas a la recolecta de la especie vegetal | 39 |

| | |
|--|----|
| Anexo 2. Constancia de certificación de la especie vegetal | 40 |
| Anexo 3. Flujograma de compuestos fenólicos | 41 |
| Anexo 4. Pesaje de la muestra seca <i>S.cumenensis</i> (zarzaparrilla) | 42 |
| Anexo 5. Flujograma del a Actividad Antioxidante <i>in vitro</i> | 43 |
| Anexo 6. Instrumento de recolección de datos | 44 |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Compuestos fenólicos presentes en raíz de <i>S. cumanensis</i> | 24 |
| Tabla 2. Prueba de normalidad - % de inhibición | 25 |
| Tabla 3. Pruebas de homogeneidad de varianzas - % de inhibición | 26 |
| Tabla 4. ANOVA - % de inhibición | 26 |
| Tabla 5. Cálculo del IC ₅₀ | 27 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Clasificación de antioxidantes | 8 |
| Figura 2. Ámbito de aplicación de los antioxidantes | 9 |
| Figura 3. Estructuras químicas de un radical 1,1 -difeníl-2-picrilhidrazilo (DPPH) | 13 |
| Figura 4. Porcentajes de inhibición entre los grupos de estudio por cada concentración evaluada | 25 |

Resumen

Objetivo: determinar la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de extractos de la raíz de *S. cumanensis*. **Metodología:** La recolección de la especie vegetal se realizó en el centro poblado de Zungarococha, distrito de San Juan Bautista. La actividad antioxidante se determinó con el ensayo de captación de radicales libres (DPPH), mientras que los compuestos fenólicos fueron cuantificados por espectrofotometría Uv-visible. **Resultados:** se reveló una notable concentración de compuestos fenólicos en los extractos, incluyendo fenoles totales (16881,607 mg/100g), flavonoides (12,493 mg/100g), antocianinas (6,312 mg/100g) y catequinas (0,003 mg/100g). En cuanto a la actividad antioxidante, la muestra seca de *S. cumanensis* (zarzaparrilla) presentó un IC₅₀ de 46,33 mg/mL, en comparación con un IC₅₀ de 83,80 mg/mL para la muestra líquida. **Conclusión:** La muestra seca de *S. cumanensis* mostró una mayor actividad antioxidante en comparación con la muestra líquida, tanto en términos de IC₅₀ como de capacidad antioxidante. Estos resultados indican que la muestra seca es más eficaz en la neutralización de radicales libres y en la provisión de beneficios antioxidantes.

Palabras clave: Actividad antioxidante, DPPH, zarzaparrilla.

Abstract

Objective: To determine the antioxidant activity and the content of phenolic compounds in *S. cumanensis* root extracts. **Methodology:** The plant species was collected in the Zungarococha settlement, San Juan Bautista district. Antioxidant activity was assessed using the DPPH free radical scavenging assay, while phenolic compounds were quantified by UV-visible spectrophotometry. **Results:** A notable concentration of phenolic compounds was revealed in the extracts, including total phenols (16,881.61 mg/100g), flavonoids (12.49 mg/100g), anthocyanins (6.31 mg/100g), and catechins (0.003 mg/100g). Regarding antioxidant activity, the dried *S. cumanensis* (zarzaparrilla) sample showed an IC₅₀ of 46.33 mg/mL, compared to an IC₅₀ of 83.80 mg/mL for the liquid sample. **Conclusion:** The dried *S. cumanensis* sample demonstrated greater antioxidant activity compared to the liquid sample, both in terms of IC₅₀ and antioxidant capacity. These results indicate that the dried sample is more effective in neutralizing free radicals and providing antioxidant benefits.

Keywords: Antioxidant activity, DPPH, sarsaparilla.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos tienen diversas propiedades antiinflamatorias para tratar la artritis reumatoide y otras afecciones inflamatorias. En la última década, se tiene especial atención a los efectos benéficos para la salud de los polifenoles vegetales dietéticos como antioxidantes; dado que se ha demostrado que los extractos de plantas y los compuestos fenólicos ejercen efectos protectores contra el estrés oxidativo y la inflamación provocada por partículas en el aire, además de una variedad de actividades antiinflamatorias, anticancerígenas, antienviejecimiento, antibacterianas y antivirales (1).

Las especies reactivas (ER) participan en numerosos procesos que ocurren en el organismo, por ejemplo, maduración celular, protección inmune, citotoxicidad contra patógenos. Sin embargo, pueden causar daños a las proteínas, los lípidos y el ADN (2). En condiciones fisiológicas, las especies reactivas producidas excesivamente son neutralizadas por antioxidantes, que pueden atenuar sus efectos dañinos (3).

Las ER son subproductos de procesos celulares cruciales e incluyen especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS). Son producidas en la cadena respiratoria mitocondrial, el metabolismo del ácido araquidónico y los nucleótidos de purina, en la síntesis de prostaglandinas y reacciones enzimáticas que son catalizadas, entre otras, por la xantina oxidasa y el triptófano dioxigenasa (4).

El estrés oxidativo y nitrosativo contribuye a numerosas enfermedades crónicas, incluidas la hipertensión, la diabetes, la aterosclerosis, los trastornos de la cicatrización de heridas, las enfermedades neoplásicas, los trastornos oculares, los trastornos cerebrales, las enfermedades autoinmunes, el envejecimiento, entre otros. Los antioxidantes que el cuerpo puede producir por sí solo u obtener externamente a través de los alimentos, protegen contra los trastornos de homeostasis redox (5-7). Existe un interés creciente en el uso de antioxidantes naturales y sintéticos como ingredientes alimentarios funcionales y suplementos dietéticos (8).

Los antioxidantes sintéticos, debido a su accesibilidad y actividad mejorada, encuentran aplicación no sólo en la estabilización de grasas, aceites y lípidos en los alimentos, sino también en la industria farmacéutica y como conservantes en cosméticos (9).

La familia Smilacaceae consta de dos géneros: *Smilax* L. y *Heterosmilax* Kunth y se distribuye principalmente en los trópicos, pero también se extiende a las regiones templadas de ambos hemisferios. *Smilax*, el género principal de Smilacaceae, contiene unas 200 especies y muestra la mayor diversidad de especies en el Este de Asia, pero sólo dos especies se distribuyen en el sur de Europa (10-11). En la medicina tradicional y popular *Smilax* spp, se han utilizado en el tratamiento de numerosas dolencias como cáncer, sífilis, disentería bacteriana aguda, inflamación, reumatismo e hipoglucemia, entre otros (12-15).

Con la información antes mencionada, resultó particularmente interesante determinar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de extractos de la raíz de *S. cumanensis*, ya que la misma es tradicionalmente utilizada en extractos etanólicos por los habitantes de la ciudad de Iquitos en el Departamento Loreto.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

En 2023, se evaluaron la composición fitoquímica, capacidad citotóxica y antioxidante de *Smilax excelsa* y *Aegopodium podagraria*, consumidas en la dieta diaria en Turkiye en el Mar Negro. La investigación determinó los efectos sobre la supervivencia de las células del carcinoma humano de próstata (PC3), colorrectal (HCT116) y pulmón (A549) y sobre la eliminación de radicales libres. En sus resultados, señala que los extractos metanólicos de *S. excelsa* exhibieron una $IC_{50}=17,16 \mu\text{g/mL}$ (ABTS) e $IC_{50}=45,81 \mu\text{g/mL}$ (DPPH). El trabajo concluyó que *S. excelsa* exhibió las mayores capacidades de eliminación de radicales libres ABTS y DPPH (16).

En 2023, se investigaron los flavonoides totales de *Smilax glabra* (TFSG). La investigación determinó nanopartículas (NP) del complejo zeína-lecitina-TFSG (NP Z-L-TFSG) utilizando la técnica de coprecipitación antisolvente. Los resultados indicaron que las NP autoensambladas de Z-L podrían servir como un sistema prometedor de administración de fármacos mediante la encapsulación integrada de múltiples flavonoides. El trabajo concluyó que la encapsulación de TFSG por Z – L NP podría mejorar su capacidad antioxidante *in vitro* (17).

En 2023, se estudiaron los extractos etanólico (EE), las fracciones de hexano (HEXF), diclorometano (DCMF), acetato de etilo (ACF) e hidroetanol (HEF) de los tallos de *Smilax brasiliensis* Sprengel. El estudio determinó composición química, contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, potencial antioxidante y efecto citotóxico sobre *Artemia salina*. En sus resultados, los EE, DCMF, ACF y HEF exhibieron potencial antioxidante mediante el ensayo DPPH ($IC_{50}= 1,71 - 32,83 \mu\text{g/mL}$). El estudio concluyó que los tallos de *S. brasiliensis* demostraron ser una rica fuente de compuestos polifenoles y exhibieron un alto potencial antioxidante sin toxicidad (18).

En 2022, se analizaron los fitoquímicos extraídos y capacidad antioxidante de *Smilax glabra* y *S. corbularia* mediante análisis LC-QTOF/MS. La investigación

determinó compuestos mediante LC-QTOF-MS. Los resultados mostraron que *S. glabra* mostró capacidad antioxidante por DPPH y ABTS con $71,94 \pm 1,46\%$ y $59,84 \pm 4,80\%$ respectivamente, y FRAP con $730,69 \pm 33,62$ mg AAE/100 g de muestra. *S. corbularia* mostró capacidad antioxidante por DPPH y ABTS con $72,24 \pm 0,64\%$ y $39,87 \pm 2,37\%$, respectivamente, y FRAP con $208,33 \pm 50,80$ mg AAE/100 g de muestra. El trabajo concluyó que *S. glabra* y *S. corbularia* pueden utilizarse como fuente de antioxidantes (19).

En 2017, se determinaron contenido fenólico y flavonoide total, actividad antioxidante y alelopática de extractos etanólicos y las fracciones obtenidas de hojas de *Smilax brasiliensis* Sprengel. La investigación usó análisis por cromatografía en capa fina. En sus resultados encontraron la presencia de rutina en el extracto etanólico y en las fracciones de acetato de etilo e hidroetanol; la actividad antioxidante fue significativamente mejor para el extracto y las fracciones de etanol que la del antioxidante comercial 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BHT). El trabajo concluyó que el extracto y las fracciones obtenidas de *S. brasiliensis* podrían utilizarse como antioxidantes y herbicidas naturales (20).

1.2 Bases teóricas

1.2.1 Especie en estudio *Smilax cumanensis* (zarzaparrilla)

TAXONOMIA

| | |
|------------------|---------------------------------|
| REINO: | Plantae. |
| DIVISION: | Magnoliophyta. |
| ORDEN: | Liliales Perleb. |
| FAMILIA: | Smilacaceae Vent. |
| GENERO: | Smilax L. |
| ESPECIE: | <i>Smilax cumanensis</i> |

Pertenece a la **clase** Equisetopsida C. Agardh, **Orden** Liliales Perleb, **Familia** Smilacaceae Vent., **Género** *Smilax* L (21). Conocida vulgarmente como zarzaparrilla. Presenta las siguientes sinonimias: *S. globifera* G. Mey., *S. hostmanniana* Kunth, *S. piranensis* Kunth, *S. surinamensis* Miq. (21).

La familia Smilacaceae Vent. consiste esencialmente en el único género *Smilax* L., que comprende alrededor de 350 especies de distribución mayoritariamente tropical y subtropical. Las Smilacaceae están incluidas en el orden Liliales (22-23).

Heterosmilax Kunth, un género asiático que se diferencia de *Smilax* por sus tépalos connatos y un número variable de estambres (3,6,9-12) con filamentos connatos, a veces se reconoce como distinto. Sin embargo, según análisis moleculares (24), Heterosmilax está anidado dentro de *Smilax*, lo que indica que la fusión del perianto ha evolucionado al menos dos veces en Smilacaceae, tal vez en conexión con un cambio en los polinizadores. Basado en análisis morfológicos (25) propusieron que el género Ripogonum J. R. Forst. y G. Forst. (Ripogonaceae) es hermana de Smilacaceae. El género *Smilax* produce rizomas que se utilizan en la medicina popular y para elaborar cerveza, los tallos son usados para la artesanía. Además, las raíces se exportaron ampliamente desde el Neotrópico para su uso en el tratamiento de la sífilis. Hasta ahora no estaba claro qué especies de *Smilax* contienen el activo componentes debido a la plasticidad fenotípica de las especies en el Neotrópico (25).

Se han realizado varios estudios taxonómicos, incluidos aquellos específicos por cada país; para la especie de *Smilax* en América Central y las islas del Caribe (26-28). *Smilax* es un género taxonómicamente difícil porque las plantas son dioicas y muestran una amplia variación fenotípica. Además, muchos de los ejemplares disponibles para estudio en los herbarios carecen de flores o frutos. Chen *et al.* (29) realizaron un estudio de la morfología del polen de *Smilax*, pero no encontraron suficiente variación para discriminar entre especies. Ferrufino & Gómez-Laurito en el 2004 (30) y Andreatta en el 1997 (31), tampoco encontraron diferencias en la morfología del polen de especies neotropicales de *Smilax* (32).

En el último quinquenio aumentó el interés por estudiar el género *Smilax*, particularmente en Europa y Asia, dado a la presencia de compuestos fenólicos. Se ha demostrado que algunas especies son efectivas para prevenir y tratar varios tipos de cáncer. Además, extractos del género *Smilax* exhiben actividad proapoptótica y antioxidante (33). Hay informes sobre la propiedad antioxidante expresada como DPPH sobre la actividad de eliminación de radicales de especies del género *Smilax*, como *S. bocki* (34), *Campestris Smilax* (35), *Glabra Smilax* (36), *S. lanceifolia* (37), *S. perfoliata* (38), *Riparia smilax* (39), *S. scobinicaulis* (40) y *S. sebeana* (41). Esta propiedad se atribuye a compuestos fenólicos como estilbenos, flavonas, flavanonas, flavonoles, smilasidas, smiglasidas y helionósidos, entre otros. Los compuestos fenólicos tienen una estructura química única para estabilizar los radicales libres en un sistema aromático. Los flavonoides y los estilbenos se han identificado como agentes beneficiosos para el tratamiento de diversas enfermedades, como enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, así como cánceres (42).

S. cumanensis, presenta tallos teretes, angulosos, armados de puntas cortas; espinas; ramas terminales en zigzag. Hojas lanceoladas, ovadas, glabras, membranosas de 10 x 2 cm, 5 venas principales conectadas por venas reticuladas; ápice agudo, base agudo o redondeado, margen entero; pecíolo de 0,5 a 1 cm de largo, redondeado. Inflorescencias umbeladas, solitarias, escamosas simples; pedúnculo de 5 a 7 mm de largo, aplanado; pedicelos de diferentes longitudes; tépalos de flores masculinas de 1,5 a 2 mm de largo; bayas negras o moradas cuando están maduras, no glauco, ovoide, de 6 a 8 mm de diámetro (43).

Los usos medicinales atribuidos a las raíces de *S. cumanensis* incluyen: diuréticos, artritis, cáncer y purificadores de la sangre (44). En el caso de *S. officinalis* las raíces se utilizan para tratar afecciones cutáneas crónicas como la psoriasis y otras enfermedades de la piel con descamación. También para aliviar los síntomas de la artritis reumatoide, en el equilibrio del sistema glandular y las hormonas, como tónico general durante la menopausia y en el aumento de la libido. **Toxicidad:** El uso a largo plazo puede causar ulceración de la mucosa gastrointestinal (44).

1.2.2 Antioxidantes

El término "antioxidante" utilizado en la literatura se limita a inhibidores antioxidantes que rompen cadenas de la peroxidación lipídica (45).

Los antioxidantes se producen en los organismos vivos y son necesarios para prevenir y contrarrestar los efectos de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno que pueden dañar el ADN, los lípidos, las proteínas y otras biomoléculas. Los antioxidantes dietéticos son importantes para mantener la salud, ya que las defensas antioxidantes endógenas (superóxido dismutasa, enzimas eliminadoras de H₂O₂, proteínas fijadoras de metales) no son suficientes para prevenir completamente el daño. Muchos componentes dietéticos se consideran antioxidantes importantes, en ese contexto existe un interés creciente en el papel de los fenólicos vegetales, especialmente los flavonoides (46).

Los sistemas antioxidantes (fuentes endógenas y dietéticas) han evolucionado para ayudar a defender el cuerpo contra los radicales libres, pero pueden verse abrumados durante períodos de estrés oxidativo crónico. Machlin y Bendich señalaron el equilibrio crucial entre la generación de radicales libres y la defensa antioxidante como una fuerza en la prevención de enfermedades. Resulta evidente que un desequilibrio entre la protección contra los radicales libres y su generación puede estar asociado con la patogénesis de una amplia variedad de enfermedades crónicas (47).

Muchos antioxidantes naturales tienen fuertes efectos antivirales. La eficacia de los flavonoides, es decir, (+): catequina, luteolina, apigenina, quercetina y quercetina 7-ramnósido, se ha demostrado en infecciones por coronavirus (48).

1.2.3 Clasificación de los antioxidantes

Suelen clasificarse en enzimáticos y no enzimáticos. Entre ellos, existen diversos compuestos con diferentes modos y lugares de acción y diferentes efectos finales. Esta diversidad determina el papel individual de cada uno de ellos en el organismo. Cabe destacar que la red de enzimas antioxidantes que interactúan, como las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GRd), muestra la mayor eficacia de defensa antioxidante (48).

El estrés oxidativo se mide mediante el uso de múltiples ensayos *in vitro*, que pueden identificar radicales libres directamente como la espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR) o resonancia de espín electrónico (ESR), sondas fluorescentes o métodos indirectos que permiten identificar los radicales libres. Productos estables que se crean como consecuencia del ataque de los radicales libres, como cromatografía, colorimetría y pruebas inmunes o enzimáticas (48).

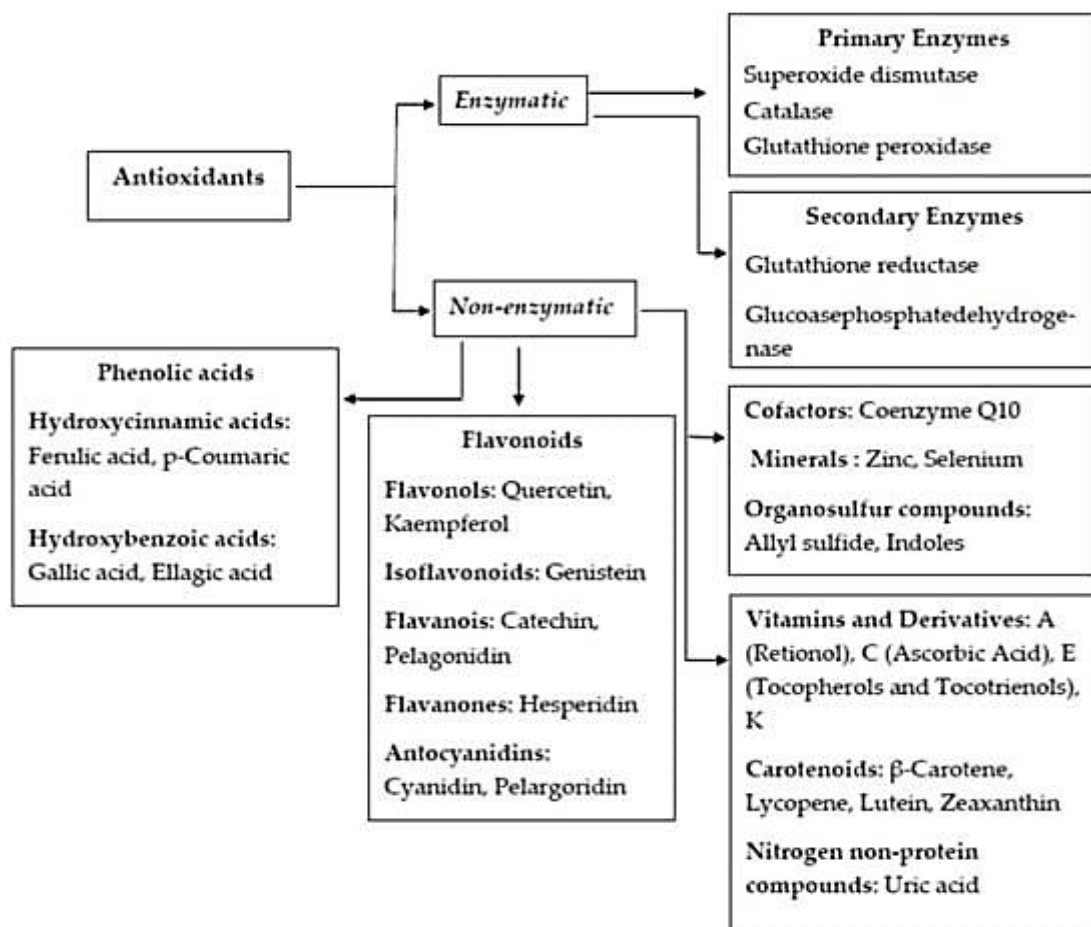


Figura 1. Clasificación de antioxidantes (49)

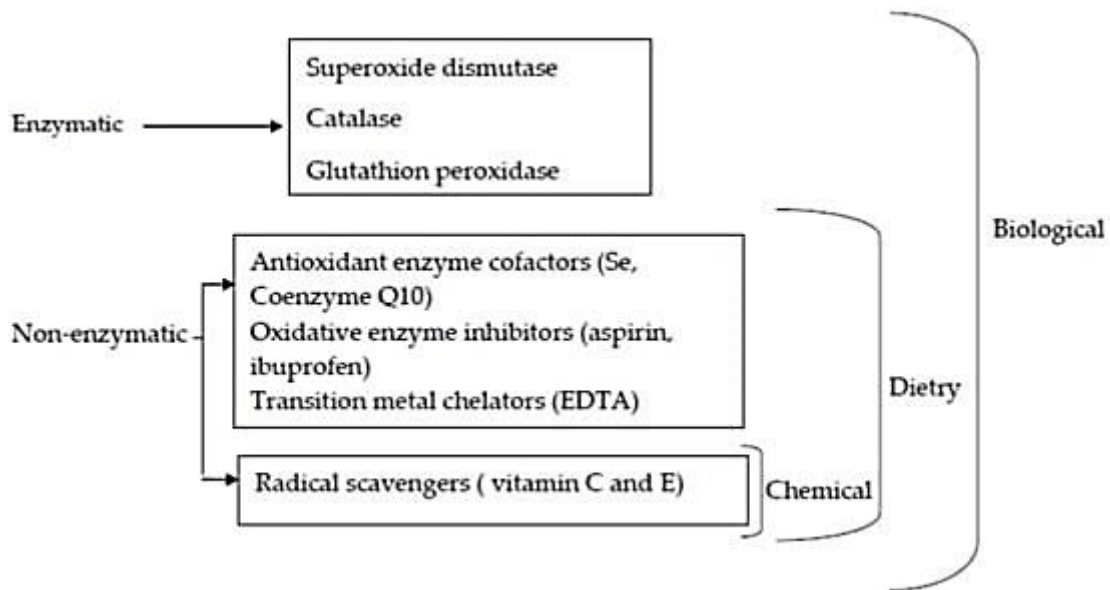


Figura 2. Ámbito de aplicación de los antioxidantes (50)

1.2.4 Actividad Antioxidante

Referida a ensayo basado en cinética que mide la constante de velocidad de reacción entre reactivos o porcentaje de eliminación por unidad de tiempo. Por tanto, el término es característico de un antioxidante y oxidante específico, expresado como valor de velocidad de reacción. En tanto que, la capacidad antioxidante se define como la eficiencia de los antioxidantes para la inhibición de la degradación oxidativa de distintos biocompuestos (48).

Las mediciones se basan en la reacción entre los antioxidantes estudiados y los radicales libres (inactivación, extinción o eliminación de especie reactiva). La capacidad antioxidante denota la cantidad (en moles) de un radical libre determinado, eliminado por una muestra. En determinadas circunstancias, es posible que los mecanismos de ET/HAT no se identifiquen fácilmente, como ocurre con los ensayos de ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS) y 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (48).

1.2.5 Mecanismos antioxidantes

Se ha demostrado que el mecanismo HAT domina en soluciones acuosas. A su vez, SET y SPLET pueden dominar en soluciones no acuosas debido a la posibilidad de que los disolventes orgánicos formen enlaces de hidrógeno con moléculas de antioxidantes. Entre los métodos SET, los más utilizados son el ensayo de capacidad de eliminación de radicales DPPH, el ensayo de capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC o ABTS), el ensayo de reducción férrica (FRAP), el ensayo de poder reductor (RP) y el ensayo de reducción de cobre (CUPRAC). Los ensayos HAT incluyen el ensayo del parámetro antioxidante atrapador de radicales peroxilo total (TRAP), el ensayo de blanqueo con crocina, ensayo de capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC) y ensayo de capacidad total de eliminación de radicales oxirradicales (TOSC) (48).

Se utilizan varias técnicas para evaluar las capacidades antioxidantes, como la espectroscopia UV-Vis, espectroscopia de fluorescencia, quimioluminiscencia, resonancia paramagnética electrónica (EPR), ensayos catalizados por enzimas y ensayos de cultivo celular. Además, existen algunas técnicas electroquímicas, incluidas técnicas de potencial controlado, sensores electroquímicos y biosensores, que se aplican comúnmente. Sin embargo, las técnicas más utilizadas para evaluar la capacidad de un antioxidante para eliminar, por ejemplo, $ABTS^{\bullet+}$, $DPPH^{\bullet}$, $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , una capacidad reductora antioxidante total, por ejemplo, TEAC, ORAC y FRAP pertenecen a técnicas espectrométricas. Estos métodos se han utilizado comúnmente para determinar la capacidad antioxidante de muchos extractos de plantas, alimentos y suplementos dietéticos. Las mediciones electroquímicas poseen algunas ventajas importantes en comparación con los métodos espectrofotométricos, principalmente debido al hecho de que son rápidas, menos tediosas, más baratas y más seguras para el medio ambiente. Incluyen técnicas electroquímicas de caracterización de antioxidantes como potenciometría, amperometría, biamperometría, voltametría cíclica (CV), voltametría de onda cuadrada (SWV) y pulso diferencial (DPV). Estos métodos aprovechan el hecho de que los antioxidantes participan en reacciones redox y actúan como agentes reductores. Las técnicas electroquímicas son capaces de medir sus potenciales redox (48).

1.2.6 Pruebas basadas en la transferencia del átomo de hidrógeno (HAT)

El ensayo ORAC determina la capacidad de los antioxidantes para eliminar las reacciones en cadena de los radicales a partir de la inhibición de la oxidación de los radicales peróxido. Los generadores de radicales peróxido comúnmente utilizados en este ensayo están representados por compuestos azo, incluido el α,α -azobisisobutironitrilo lipófilo (AIBN), el clorhidrato de 2,2-azobis(2-amidinopropano) (ABAP), el 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitrilo) (AMVN) y el diclorhidrato de 2,2'-azobis(2-amidinopropano) hidrófilo (AAPH). El ensayo ORAC puede medir directamente la capacidad antioxidante frente a los radicales hidroxilos, interrumpiendo la reacción radical. Este ensayo evalúa la capacidad de los complejos de Co (II) para proteger contra la generación de radicales hidroxilos. Se incubaba fluoresceína con la muestra a analizar y se añade la mezcla Fenton (un generador de radicales hidroxilos). Luego, se mide la fluorescencia original y después de agitar se lleva a cabo la lectura cada minuto (51).

El ensayo TRAP está basada en la capacidad presente en los antioxidantes para inhibir la reacción entre radicales peróxido y moléculas diana, que inicialmente representó el consumo de O_2 (como muestra) durante el proceso de peroxidación desencadenada por la descomposición térmica del 2,2' azobis(diclorhidrato de 2-amidinopropano) (ABAP). El tiempo de retardo de la absorción de O_2 (período de inducción), puede cuantificarse y utilizarse a fin de expresar la capacidad antioxidante total de la muestra como valor TRAP (51).

El ensayo TOSC se basa en inhibir la formación de etileno (una reacción de control se monitorea mediante cromatografía de gases) en presencia de compuestos antioxidantes que compiten con el ácido α -ceto- γ -betiolbutírico (KMBA) por las ROS. Esta prueba usa el área bajo la curva de concentración de etileno comparada con el tiempo de reacción (aproximadamente 5 horas) (51).

El ensayo CUPRAC se basa en la reducción de cúprico (Cu^{2+}) a cuproso (Cu^+) para determinar la capacidad antioxidante total. Al igual que en otros ensayos, se utiliza un ligando como la neocuproína (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina) para formar el complejo cobre-ligando a fin de facilitar la medición de la absorbancia (51).

El ensayo FRAP evalúa la reducción del complejo de iones férricos (Fe^{3+}) a un complejo ferroso de color azul intenso (Fe^{2+}) mediante la acción de antioxidantes en condiciones ácidas. La actividad antioxidante se mide como el aumento en la absorbancia a 593 nm, y los resultados se expresan en equivalentes micromolares de Fe^{2+} o en comparación con un antioxidante de referencia. A diferencia de otros métodos basados en la transferencia de electrones (SET), el ensayo FRAP se lleva a cabo en un medio ácido ($\text{pH}=3,6$) para asegurar la solubilidad del hierro (51).

La prueba de Folin-Ciocalteu se fundamenta en la reducción del reactivo por compuestos fenólicos en un medio alcalino. Se considera que su estructura química contiene un complejo de ácido fosfomolibdico y fosfotúngstico, que se reduce generando un cromóforo de color azul con una absorción máxima a 765 nm. El molibdeno presente en el complejo funciona como el sitio de reducción, donde el ion Mo^{6+} se transforma en Mo^{5+} al aceptar un electrón proveniente del antioxidante fenólico (51).

1.2.7 Pruebas de modo mixto (HAT/SET)

El ensayo TEAC se basa en la eliminación de aniones radicales de larga vida ($\text{ABTS}^{\bullet-}$). En este ensayo, los radicales se generan a través de la actividad peroxidasa de la metmioglobina en presencia de peróxido de hidrógeno y pueden detectarse fácilmente espectrofotométricamente a 734 nm. En este ensayo, los antioxidantes se añaden antes de que el peróxido de hidrógeno inicie la formación de $\text{ABTS}^{\bullet-}$, lo que resulta en un retraso en la formación de radicales (“tiempo de demora”) que se mide (52).

El ensayo DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo), se basa en mediciones espectrofotométricas de la capacidad de los antioxidantes para eliminar los radicales DPPH. El único electrón del átomo de nitrógeno en DPPH se reduce a la correspondiente hidracina tomando un átomo de hidrógeno de los antioxidantes. El radical DPPH \cdot tiene un color notablemente estable e intenso. Debido a estas dos propiedades del radical, su solución se ha utilizado intensivamente. Este radical se ha utilizado con frecuencia en la química de polímeros, especialmente en espectroscopia EPR y en la evaluación de las capacidades antioxidantes de

productos químicos (53-54). La estabilidad de los radicales se debe al apiñamiento estérico en el átomo de N divalente de primer orden y al efecto “push-pull” ejercido por el grupo difenilamino de segundo orden, un donante de electrones, y el picrilo, un aceptor de electrones. Este efecto estabiliza considerablemente la estructura canónica. EPR mide las densidades de espín en los dos átomos de hidrazilo N, que son grandes y esencialmente iguales. Se ha informado que las dos bandas distintas que se ven en el espectro UV-vis de DPPH· se producen mediante transiciones π - π^* , y el electrón desapareado hace una contribución importante a la banda en la región visible (55-56).

Cuando una solución de DPPH se mezcla con una solución de una sustancia capaz de donar un átomo de hidrógeno, este color violeta desaparece, dando como resultado la forma reducida del radical DPPH (DPPH-H) (57). La banda más ancha es responsable del color violeta intenso de la solución DPPH·. La formación de hidracina (DPPH-H) induce la desaparición de la banda visible a medida que el color de la solución cambia de violeta a amarillo pálido como resultado de la reducción de radicales por transferencia de átomos de hidrógeno de los antioxidantes, que son donantes de H. La intensidad del color de esta reacción, conocida en la literatura como "prueba DPPH", se puede registrar fácilmente mediante espectroscopia UV-vis. Este método se utiliza ampliamente para evaluar la capacidad antioxidante de moléculas antioxidantes puras, especialmente extractos de hierbas o compuestos fenólicos (58).

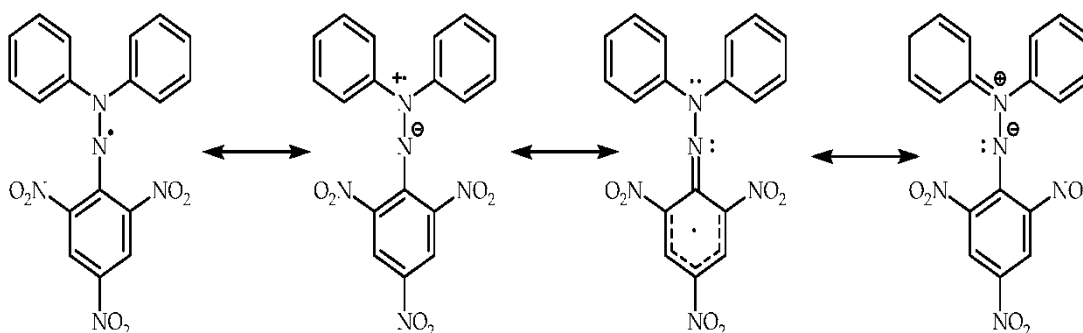


Figura 3. Estructuras químicas de un radical 1,1 -difeníl-2-picrilhidrazilo (DPPH) (59)

1.2.8 Espectrofotometría

Es la medición cuantitativa de cómo la radiación ultravioleta (UV), visible e infrarroja (IR) interactúa con un material, lo que resulta relevante para diversas áreas científicas y tecnológicas. La forma en que ocurre esta interacción está determinada por las características físicas del material, como si es transparente u opaco, liso o áspero, puro o contaminado, delgado o grueso (60).

La precisión de las mediciones espectrofotométricas y las propiedades ópticas resultantes del material de prueba dependen del diseño y calibración del espectrofotómetro, la elección del estándar de referencia y la interacción de la muestra con el instrumento de medición (60).

1.2.9 Técnicas espectrofotométricas

Se emplean para evaluar cómo interactúan los distintos componentes de frecuencia de las radiaciones electromagnéticas (REM) con la materia. Después de la interacción con la materia, estas radiaciones son absorbidas por la materia. No es posible que miremos la materia, sino que observamos la interacción de la luz con diferentes grados de libertad de la materia y/o sustancia. Este capítulo describe los conceptos básicos de la espectrofotometría y varios tipos de técnicas espectrofotométricas. La espectrofotometría es un método clave que se utiliza frecuentemente para la identificación y cuantificación de materias primas y productos farmacéuticos (61).

1.2.10 Ultravioleta UV/VISIBLE

Es una técnica analítica, simple, versátil, adecuada para un amplio espectro de compuestos orgánicos y algunas especies inorgánicas. En función de la longitud de onda, los espectrofotómetros UV-Vis miden la absorción o transmisión de la luz que pasa a través de un medio. Las técnicas del espectrofotómetro UV-Vis son aplicables a una amplia gama de disciplinas de investigación, a saber, agricultura, alimentación, farmacéutica, medio ambiente y muchas otras (62).

La espectroscopía UV-Visible se fundamenta en la capacidad de los compuestos químicos para absorber luz ultravioleta o visible, lo que genera espectros característicos. Este proceso implica la interacción entre la luz y la materia. Al absorber la luz, la materia experimenta cambios de excitación y desexcitación, produciendo un espectro. Cuando la materia capta radiación ultravioleta, los electrones se excitan, pasando de un estado basal (con menor energía) a uno excitado (con mayor energía). Cabe destacar que la diferencia de energía entre estos estados corresponde exactamente a la radiación ultravioleta o visible absorbida (63).

Espectroscopia UV-Visible y la ley de Beer-Lambert

El enunciado de la ley de Beer-Lambert se puede escribir de la siguiente manera: cuando un haz de luz monocromática incide sobre una solución que contiene una sustancia que absorbe la luz monocromática, la velocidad a la que la intensidad del haz disminuye a lo largo del espesor de la solución es directamente proporcional a la concentración de la sustancia absorbente en la solución y también es directamente proporcional a la intensidad de la radiación monocromática incidente. Según la ley de Beer-Lambert, cuanto mayor sea el número de moléculas absorbentes (que tienen la capacidad de absorber luz de una longitud de onda específica), mayor será el grado de absorción de la radiación (63).

1.3 Definición de términos básicos

DPPH: es un radical libre estable que se puede utilizar para medir la actividad eliminadora de radicales de los antioxidantes. El electrón impar del átomo de nitrógeno en DPPH se reduce aceptando un átomo de hidrógeno de los antioxidantes en la hidracina correspondiente (64).

Actividad antioxidante: descrito “como una limitación de la oxidación de proteínas, lípidos, ADN u otras moléculas que se produce al bloquear el paso de propagación en las reacciones en cadena oxidativas” (65).

IC₅₀: medida cuantitativa que representa la cantidad de una sustancia inhibidora particular necesario para detener un proceso o componente biológico en un 50% *in vitro* (66).

Compuestos fenólicos: químicamente son compuestos que contienen anillos aromáticos hidroxilados, estando el grupo hidroxilo unido de manera directa al grupo fenilo, fenilo sustituido u otro grupo arilo (67).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1 Formulación de hipótesis

Los extractos líquido y seco de la raíz de *S. cumanensis* (zarzaparrilla) presentan compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

2.2 Variables y su operacionalización

3.1.1 Variable independiente:

Extracto líquido y seco de la raíz de *S. cumanensis*.

3.1.2 Variable dependiente:

Actividad antioxidante *in vitro*.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| Variable | Definición conceptual | Tipo por su naturaleza | Indicador | Escala de medición | Categorías | Valores de las categorías | Medio de verificación |
|--|---|------------------------|--|--------------------|---------------------|---------------------------|-------------------------------------|
| Independiente | | | | | | | |
| Extracto líquido y seco de la raíz de <i>S. cumanensis</i> . | Constituyen un grupo que abarca desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos, hasta polímeros complejos, como la lignina y los taninos; a estos compuestos se les atribuyen propiedades antiinflamatorias, antidiabéticas y antibacterianas, entre otras. | Cuantitativa | Compuestos fenólicos | Razón | | | Instrumento de recolección de datos |
| Dependiente | | | | | | | |
| Actividad antioxidante <i>in vitro</i> . | Ensayo donde se puede evaluar la actividad antioxidante de un tratamiento, en términos de concentraciones inhibitorias (IC ₅₀). | Cuantitativa | Capacidad de inhibición de radicales libres al 50% | Razón | Activo No activo | >50% <50% | |

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Diseño metodológico

Tipo de estudio: experimental, porque las variables fueron controladas deliberadamente para delimitar relaciones entre ellas.

Diseño: analítico. El estudio se llevó a cabo en dos ubicaciones. La primera fue el Laboratorio de Ingeniería de Alimentos de la planta piloto, perteneciente a la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, ubicado en la calle Freyre N° 610. La segunda ubicación fue el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Química situado en la calle Pevas, 5ta cuadra S/N. Ambos laboratorios pertenecen a la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, ubicados en el distrito de Iquitos, provincia de Maynas, departamento de Loreto.

3.2 Diseño muestral

La población de estudio estuvo constituida por todos los arbustos *S. cumanensis* (zarzaparrilla) presentes en la comunidad de Nina Rumi.

Muestra: dos kilogramos de raíz de la especie vegetal en buen estado de conservación.

El muestreo se realizó por conveniencia, los mismos que fueron georeferenciados (90° E 3°50'39" S 73°22'40" O).

Criterios de inclusión:

- Raíz de *S. cumanensis* (zarzaparrilla) en buen estado de conservación, procedentes de la comunidad de Nina Rumi.

Criterios de exclusión:

- Raíz que evidencien contaminación.

3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Antes de comenzar los procesos experimentales en los laboratorios, se verificó que las condiciones ambientales fueran óptimas, manteniendo una

temperatura entre 18 y 25 °C; y, una humedad relativa en el rango de 45 a 55 %.

A) Obtención de especies vegetales

Se recolectó la raíz de *S. cumanensis* utilizando tijeras de podar, almacenándola en sobres de manila etiquetados para su traslado al laboratorio. (Anexo 1). La raíz fue lavada exhaustivamente con agua destilada y secada antes de ser cortada en fragmentos pequeños. Posteriormente, se pesaron las muestras y se colocaron en frascos esterilizados. Se realizó una selección rigurosa de las raíces en buen estado para su correcta identificación y certificación. La especie fue debidamente certificada por el responsable del Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. (Anexo 2).

B) Determinación de compuestos fenólicos

Se utilizó la técnica espectrofotométrica de UV/vis descrita por Valls *et al.*: (68).

Preparación del extracto: se tomaron 0,5 g del material micropulverizado y se sometieron a extracción con 25 mL de etanol absoluto, previamente acidificado ligeramente con ácido fórmico al 1% (realizado tres veces). Posteriormente, el material se secó en estufa a 40 °C. El residuo seco obtenido fue disuelto nuevamente en 10 mL de metanol al 50%, acidificado con ácido fórmico al 1%.

- Se empleó el método de Folin para cuantificar los polifenoles totales. Para ello, se mezclaron 40 µL del extracto con 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 2 mL de Na₂CO₃ al 20% (p/v), diluyendo la mezcla hasta 10 mL. Luego de 30 minutos, se midió la absorbancia a 765 nm (68). (Anexo 3)
- La concentración de antocianinas totales y flavonoides se determinó midiendo las antocianinas del extracto a una longitud de onda de 535 nm y los flavonoides a 374 nm, respectivamente (68).

- Para medir las catequinas en el extracto, se aplicó la prueba de vainillina: se mezclaron 0,5 mL del extracto con 1,25 mL de vainillina en metanol al 1% (p/v) y 1,25 mL de H₂SO₄ al 25% (v/v) en metanol. Se preparó un blanco usando metanol en lugar de vainillina. Luego de 15 minutos, se registró la absorbancia a 510 nm. Se utilizó metanol de grado analítico como control en cada medición (68).

C) Determinación de la actividad antioxidante *in vitro*

Se realizó por el método de DPPH modificado (con pureza $\geq 90\%$), siguiendo lo siguiente: (69).

Solución DPPH: se prepararon 10 mL de solución madre DPPH a 1 mMol en metanol puro, homogenizado en equipo baño maría con sonicador. A partir de esta solución se preparó una solución de trabajo a 0,1 mMol de DPPH, la misma que fue usada en todo el proceso de experimentación.

Obtención del extracto: se obtuvo pesando 2,8 kg de muestra seca en 4 litros de etanol 96°, dejándola macerar por 15 días. Cumplido el tiempo de maceración, se procedió al filtrado de la muestra y posterior evaporación del solvente a presión reducida en equipo rotavapor.

Extracto líquido: se utilizó un frasco ámbar estéril para contener aproximadamente 5 mL de la muestra líquida, que se conservaron en refrigeración durante 5 días.

Extracto seco: la muestra se colocó en una placa de Petri y se secaron a temperatura ambiente (25 °C) durante cinco días, dejándola sedimentar.

Para ambos casos, se prepararon soluciones de trabajo a 50, 80 y 100 mg/mL. (Anexo 4)

Lectura en el espectrofotómetro: se usaron cubeta de poliestireno de 1,5 mL, en ella se agregaron 0,025 mL de los extractos por cada concentración más 0,975

mL de DPPH 0,1 mMol. La lectura de las absorbancias se ejecutó en espectrofotómetro UV/Vis a 515 nm. (Anexo 5). Cada absorbancia fue leída en intervalos de 30 s por 5 minutos. La inhibición del secuestro radical DPPH, se determinó utilizando la siguiente fórmula:

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

No obstante, los resultados obtenidos con este método se expresan como IC₅₀, utilizándose la siguiente expresión: $y = 000 \ln(x) + 001$

Donde:

- y es la variable dependiente (por ejemplo, la respuesta medida, como la inhibición en un experimento de IC₅₀).
- x es la variable independiente (por ejemplo, la concentración del inhibidor).
- $\ln(x)$ es el logaritmo natural de la concentración.
- 000 es el coeficiente que multiplica al logaritmo natural, indicando la tasa de cambio en y con respecto a $\ln(x)$.
- 001 es la ordenada al origen o intercepto, que representa el valor de y cuando $x=1$ (ya que $\ln(1) = 0$).

Trolox y Curva de Calibración

Trolox (con un peso molecular de 250.59 g/mol) es ideal para estudios antioxidantes debido a su capacidad de neutralizar radicales libres, lo que facilita la comparación de la actividad antioxidante de diversas muestras en equivalentes de Trolox (mM). Para medir esta actividad con precisión, se elabora una curva de calibración utilizando concentraciones variadas de Trolox, que vincula la absorbancia con la concentración y sirve como referencia para evaluar los niveles antioxidantes en las muestras.

Curva de Calibración de Trolox

Se construyó a partir de una serie de diluciones elaboradas desde una solución madre de concentración conocida. Estas diluciones abarcaban un rango de concentraciones que se ajustaba al intervalo previsto de actividad antioxidante en las muestras analizadas, registrándose las absorbancias correspondientes a cada concentración. En este estudio, se prepararon concentraciones de 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09 y 0,10 μmol , cuyas absorbancias fueron medidas con un espectrofotómetro UV-visible.

3.4 Procesamiento y análisis de datos

Los datos se presentan en forma gráfica y tablas provenientes del software SPSS versión 27. Para establecer diferencias estadísticas, se realizó ANOVA de un factor (Anexo 6).

3.5 Aspectos éticos

No aplica, porque en la presente investigación no se involucran seres vivos.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Metabolitos secundarios

Tabla 1. Compuestos fenólicos presentes en raíz de *S. cumanensis*

| Especie en estudio | Fenoles Totales mg/100g | Flavonoides mg/100g | Antocianinas mg/100g | Catequinas mg/100g |
|--------------------------------|----------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|
| <i>S. cumanensis</i> - raíz | 16881,607 | 12,493 | 6,312 | 0,003 |

En la tabla 1, se observa que la raíz de *S. cumanensis* (zarzaparrilla) presenta una alta concentración de compuestos fenólicos y una cantidad moderada de flavonoides y antocianinas, lo que sugiere un alto potencial antioxidante. Aunque las catequinas están presentes en cantidades muy pequeñas, su contribución, aunque limitada, podría complementar los efectos protectores de los otros compuestos. Estos resultados respaldan el uso tradicional de la *S. cumanensis* como planta medicinal, especialmente en el manejo de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

Actividad antioxidante

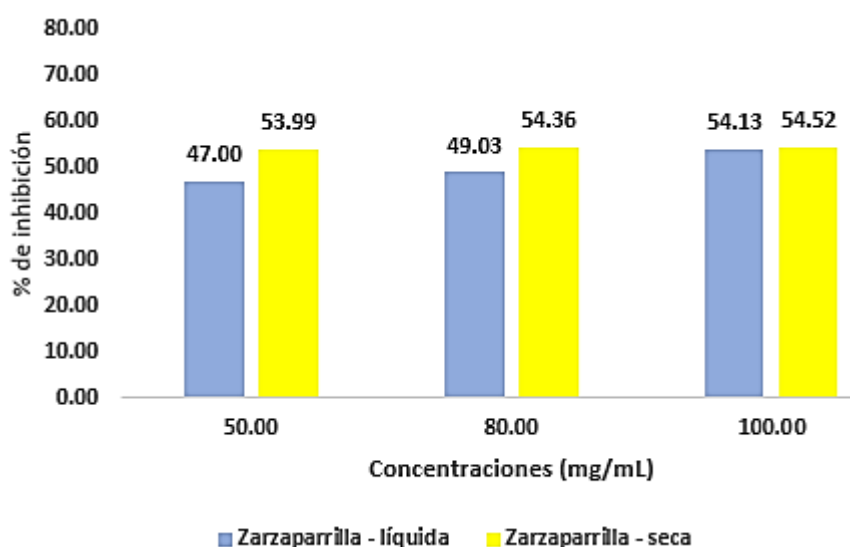


Figura 4. Porcentajes de inhibición entre los grupos de estudio por cada concentración evaluada

En la figura 4, la muestra seca, tiene un alto porcentaje de inhibición incluso a bajas concentraciones. En términos de eficacia de inhibición, la muestra seca es más efectiva que la muestra líquida a todas las concentraciones probadas.

Tabla 2. Prueba de normalidad - % de inhibición

| Tipo de extracto | Shapiro-Wilk | | |
|------------------------|--------------|----|-------|
| | Estadístico | GI | Sig. |
| Muestra líquida - raíz | 0,942 | 3 | 0,535 |
| Muestra seca - raíz | 0,950 | 3 | 0,570 |

En la Tabla 2, se observa que el valor de significancia (p-valor) es superior a 0,05 en ambos casos. Esto indica que no se puede rechazar la hipótesis de normalidad para las muestras líquida y seca de raíz, sugiriendo que los datos pueden ser considerados como distribuidos normalmente.

Tabla 3. Pruebas de homogeneidad de varianzas - % de inhibición

| | | Estadístico | | | |
|------------|---|-------------|-----|-------|-------|
| | | de Levene | gl1 | gl2 | Sig. |
| Porcentaje | Se basa en la media | 7,829 | 1 | 4 | 0,049 |
| Inhibición | Se basa en la mediana | 2,191 | 1 | 4 | 0,213 |
| | Se basa en la mediana y con gl ajustado | 2,191 | 1 | 2,021 | 0,276 |
| | Se basa en la media recortada | 7,244 | 1 | 4 | 0,055 |

En la tabla 3, solo la prueba basada en la media muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Las pruebas basadas en la mediana y la mediana con grados de libertad ajustados no muestran diferencias significativas. La prueba basada en la media recortada muestra un valor de significancia de 0,055 que está cerca del umbral de 0,05 indicando una tendencia hacia una diferencia en la varianza, pero no alcanza el nivel de significancia convencional.

Tabla 4. ANOVA - % de inhibición

| | Suma de cuadrados | Gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|-------------------|----|------------------|-------|-------|
| Entre grupos | 26,924 | 1 | 26,924 | 3,969 | 0,117 |
| Dentro de grupos | 27,137 | 4 | 6,784 | | |
| Total | 54,061 | 5 | | | |

En la Tabla 4, el valor de F es 3,969 y el p-valor asociado es 0,117. Dado que el p-valor excede el umbral de significancia de 0.05, no se puede considerar que las diferencias entre los grupos sean estadísticamente significativas. En consecuencia, los datos no ofrecen evidencia suficiente para afirmar que existen diferencias significativas entre los grupos.

Tabla 5. Cálculo del IC₅₀

| Muestra | IC ₅₀ obtenida | Concentraciones (mg/mL) | Capacidad antioxidante equivalente a trolox (μmolTE/g materia seca) |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------|---|
| Zarzaparrilla – líquida | 83,80 | 50 | 47,38 |
| | | 80 | 30,84 |
| | | 100 | 27,14 |
| Zarzaparrilla - seca | 46,33 | 50 | 54,14 |
| | | 80 | 34,06 |
| | | 100 | 27,33 |

En la Tabla 5 se evidencia que la muestra seca de zarzaparrilla presenta una capacidad antioxidante superior en comparación con la zarzaparrilla líquida. Esto se refleja en los valores de IC₅₀ y en la capacidad antioxidante equivalente a Trolox. La muestra seca requiere una menor concentración para inhibir el 50% de los radicales libres (menor IC₅₀), lo que indica una mayor eficacia antioxidante.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Smilax cumanensis, comúnmente conocida como zarzaparrilla, es una planta trepadora perteneciente a la familia Smilacaceae. Originaria de las regiones tropicales de América, esta especie ha sido utilizada tradicionalmente por sus propiedades medicinales. Las raíces de *S. cumanensis* son ricas en compuestos bioactivos, como fenoles, flavonoides, antocianinas y catequinas, que confieren a la planta sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios. Estos componentes han sido estudiados por su potencial en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades crónicas. Además, la zarzaparrilla se emplea en la fabricación de bebidas y suplementos dietéticos, destacándose por sus beneficios para la salud (12).

Por otra parte, en un estudio realizado en 2023 (18) sobre los extractos etanólicos (EE) y las fracciones de hexano (HEXF), diclorometano (DCMF), acetato de etilo (ACF) e hidroetanol (HEF) obtenidas de los tallos de *Smilax brasiliensis*, se determinó la composición química, así como el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides. Los resultados indicaron que los tallos de *S. brasiliensis* son una fuente rica en polifenoles, con un elevado potencial antioxidante y sin efectos citotóxicos. Al comparar ambos estudios, se observa que la raíz de *S. cumanensis* presenta una concentración de fenoles totales significativamente mayor. Este elevado contenido de fenoles en *S. cumanensis* podría sugerir una capacidad antioxidante superior, dado que los fenoles son reconocidos por sus propiedades antioxidantes.

La comparación entre la muestra de zarzaparrilla seca y la muestra líquida revela diferencias significativas en cuanto a su eficacia antioxidante, medida tanto por IC₅₀ como por capacidad antioxidante equivalente a trolox. La zarzaparrilla seca mostró una eficacia antioxidante destacada con un IC₅₀ de 46,33 mg/mL, significativamente menor que los 83,80 mg/mL observados en la muestra líquida. Además, la capacidad antioxidante equivalente a trolox fue más alta en la zarzaparrilla seca en comparación con la muestra líquida, indicando una mayor capacidad para neutralizar radicales libres.

Estos hallazgos coinciden con estudios recientes sobre otras especies de *Smilax*. Por ejemplo, en 2023 (16), se evaluaron los extractos de tallos de *S. brasiliensis*, los cuales mostraron un potencial antioxidante destacado con IC_{50} entre 1,71 y 32,83 $\mu\text{g/mL}$ en el ensayo DPPH. Este estudio subrayó que los tallos de *S. brasiliensis* son una rica fuente de compuestos polifenoles con alta actividad antioxidante y sin efectos citotóxicos significativos.

Al comparar estos resultados con los obtenidos en 2022 (19) para *S. glabra* y *S. corbularia*, se observó que *S. glabra* presentó una capacidad antioxidante del 71,94% en el ensayo DPPH y del 59,84% en el ensayo ABTS, mientras que *S. corbularia* mostró un 72,24% y 39,87%, respectivamente. Aunque los porcentajes de inhibición en *S. glabra* y *S. corbularia* son superiores a los de *S. cumanensis*, estos hallazgos sugieren que la raíz de *S. cumanensis*, especialmente en su forma seca, podría representar una fuente prometedora de antioxidantes naturales. No obstante, se requieren estudios adicionales para identificar y comparar de manera directa los compuestos específicos responsables de la actividad antioxidante en cada especie.

Finalmente, estos resultados subrayan la diversidad de las especies de *Smilax* en cuanto a su contenido fitoquímico y capacidad antioxidante. La zarzaparrilla seca, con su notable eficacia antioxidante, refuerza la idea del potencial de las especies de *Smilax* como fuentes valiosas de antioxidantes naturales, que podrían ser aplicados en el desarrollo de productos nutracéuticos y farmacológicos para mejorar la salud y el bienestar humano.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

De la información obtenida, se llegó a las siguientes conclusiones:

- La raíz de zarzaparrilla se destaca como una rica fuente de compuestos fenólicos, lo que la convierte en una candidata prometedora para aplicaciones nutracéuticas y farmacológicas destinadas a promover la salud y el bienestar.
- La muestra seca de zarzaparrilla presenta un alto porcentaje de inhibición incluso a bajas concentraciones, manteniendo este porcentaje casi constante con el aumento de la concentración. Este comportamiento sugiere una estabilidad en la capacidad de inhibición de la muestra seca, destacándose como más efectiva en comparación con la muestra líquida a todas las concentraciones probadas.
- La muestra de zarzaparrilla seca tiene una mayor eficacia antioxidante en comparación con la muestra líquida, tanto en términos de IC_{50} como en capacidad antioxidante equivalente a trolox. Estos resultados indican que la muestra seca posee una mayor capacidad para neutralizar radicales libres y proporcionar beneficios antioxidantes.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

1. Aprovechando el alto contenido de compuestos fenólicos en la raíz de zarzaparrilla, se recomienda el desarrollo de suplementos nutracéuticos. Estos productos podrían proporcionar beneficios antioxidantes y contribuir al bienestar general, ayudando a combatir el estrés oxidativo y mejorar la salud celular.
2. Dada la prometedora eficacia antioxidante de la muestra seca de zarzaparrilla, se recomienda fomentar la investigación y el desarrollo de productos farmacológicos. Estos compuestos podrían ser empleados para tratar o prevenir afecciones vinculadas con el estrés oxidativo, tales como enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y algunos tipos de cáncer.
3. Considerando que la muestra seca de zarzaparrilla demuestra una mayor eficacia antioxidante que la muestra líquida, se recomienda evaluar y optimizar los diferentes formatos de producto (seco vs. líquido). Este análisis puede ayudar a identificar el formato más eficiente y eficaz para diversas aplicaciones, asegurando que se maximicen los beneficios antioxidantes en los productos finales.

CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mominur R, Saidur R, Rezaul I, Firoza R, Faria MM, Taha A, Mohannad AA, Samia QA, Abdullah SA, Sohel H, Muniruddin A, Rajib D, Talha BE, Sahab U. Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. *Journal List Molecules*. 2022; 27(1):233.
2. Schieber M, Chandel N. Función ROS en la señalización redox y el estrés oxidativo. *actual. Biol.* 2014; 24:453-462.
3. Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Lograr el equilibrio entre ROS y antioxidantes: cuándo utilizar los antioxidantes sintéticos. *Óxido. Medicina. Celúla. Longev.* 2013; 956792.
4. Halliwell B, Gutteridge C. Radicales libres en biología y medicina. 5ª edición. Prensa de la Universidad de Oxford; Oxford, Reino Unido: 2015. 707p.
5. Koss I, Baranowska M, Namieśnik J, Bartoszek A. Methods for determining the antioxidant properties of phytochemicals in cellular systems using the fluorescence/luminescence phenomenon. *Progress Hig. Med. I give.* 2017; 71:602-617.
6. Kabel AM. Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. *World J. Nutr. Health.* 2014; 2:35-38.
7. Lith R, Ameer GA. Oxidative Stress and Biomaterials. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 2016. Chapter Ten-Antioxidant Polymers as Biomaterial; pp. 251–296.
8. Weissbach H, Resnick L, Brot N. Metionina sulfóxido reductasas: historia y papel celular en la protección contra el daño oxidativo. *Biochim. Biofísica. Proteoma de Proteínas Acta.* 2005; 1703:203-212.
9. Costa V, Moradas P. Estrés oxidativo y transducción de señales en *Saccharomyces cerevisiae*: conocimientos sobre el envejecimiento, la apoptosis y las enfermedades. *Mol. Áspid. Medicina.* 2001; 22:217–246.
10. Cameron KM, Fu C. Una filogenia de ADNr nuclear de *Smilax* (Smilacaceae). *Aliso A J. Syst. Florista. Bot.* 2006; 22:598–605.
11. Chen C, Qi ZC, Xu XH, Viene HP, Koch MA, Jin XJ, Fu CX, Qiu YX. Comprensión de la formación de disyunciones Mediterráneo-África-Asia:

- evidencia de vicarianza impulsada por el clima del Mioceno y reciente dispersión a larga distancia en el relicto terciario *Smilax aspera* (Smilacaceae). *Nuevo fitol.* 2014; 204:243–255.
12. Ageel AM, Mossa JS, Al-Yahya MA, Al-Said MS, Tariq M. Estudios experimentales sobre fármacos antirreumáticos crudos utilizados en la medicina tradicional saudita. *Drogas. Exp. Clínico. Res.* 1989; 15:369-372.
 13. Fukunaga T, Miura T, Furuta K, Kato A. Efecto hipoglucemiante del rizoma de *Smilax glabra* en ratones normales y diabéticos. *Biol. Farmacéutica. Toro.* 1997; 20: 44–46.
 14. Ella T, Zhao C, Feng J, Wang L, Qu L, Colmillo K, Cai S, Shou C. El extracto de zarzaparrilla (rizoma de *Smilax glabra*) inhibe la migración y la invasión de células cancerosas al suprimir la vía TGF- β 1. *PLoS ONE.* 2015; 10:1-16.
 15. Yeşilada E, Sezik E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Medicina tradicional en Turquía IX: Medicina popular en el noroeste de Anatolia. *J. Etnofarmacol.* 1999; 64:195–210.
 16. Sezen YS, Derya ÇP, Can ÖY. Actividades citotóxicas, antioxidantes y análisis fitoquímicos de *Smilax excelsa* L. y *Aegopodium podagraria* L. *Biociencia de los alimentos.* 2023; 52:102359.
 17. Jing L, Yingxiu Z, Wenfang J, Yue W, Li Y, Zhifeng Z, Zhigang Y. Preparación y caracterización de zeína-lecitina-flavonoides totales a partir de nanopartículas del complejo *Smilax glabra* y estudio de su actividad antioxidante en células HepG2. *Food Chemistry: X.* 2023; 17:100579.
 18. Assis IC, Santos L, Fonsêca AH, de Souza K, Santos VS, Brentán D, dos Santos LAR. Perfil químico, potencial antioxidante y toxicidad de los tallos de *Smilax brasiliensis* Sprengel (Smilacaceae). *Investigación Alimentaria Internacional.* 2023; 168:112781.
 19. Peerapong J, Sukit T, Pichamon Y, Anurak W, Kunrunya S, Sumed Y. Tentative Identification of Phytochemicals from *Smilax glabra* and *Smilax corbularia* Extracts by LC-QTOF/MS and Their Bioactive Potential. *Plants.* 2022; 11:2089.
 20. Fonseca JC, Barbosa MA, Silva ICA, Duarte Almeida JM, Castro AHF, dos Santos Lima LAR. Antioxidant and allelopathic activities of *Smilax*

- brasiliensis* Sprengel (Smilacaceae). South African Journal of Botany. 2017; 111:336-340.
21. *Smilax cumanensis* Humb. & Bonpl. ex Willd. Tropicos connecting the world to botanical data since 1982. Disponible en: <https://tropicos.org/name/18400895>
 22. Takhtajan A. 1997: Diversity and classification of flowering plants. – New York: Columbia University.
 23. Heywood VH, Brummitt RK, Culham A, Seberg O. 2007: Flowering plant families of the world. – Kew: Royal Botanic Gardens
 24. Cameron KM, Fu C. 2006: A nuclear rDNA phylogeny of *Smilax* (Smilacaceae). – Pp. 598 – 605 in: Columbus JT, Friar EA, Porter JM, Prince LM & Simpson MG. (ed.), Monocots: comparative biology and evolution. Excluding Poales – Aliso 22.
 25. Chen SC, Qiu YX, Wang AL, Cameron KM, Fu CX. A phylogenetic analysis of Smilacaceae based on morphological data. – Acta Phytotax. Sin. 2006; 44:113-125.
 26. Killip EP, Morton CV. A revision of the Mexican and Central American species of *Smilax*. – Publ. Carnegie Inst. Wash. 1936; 461:255-297.
 27. Morton CV. A reexamination of Mexican *Smilax*, Smilacaceae. – Brittonia. 1962; 14:299-309.
 28. Huft MJ. Smilacaceae. in: Davidse MSG, Arthur S, Chater O. (ed.), Flora mesoamericana 6 – México: UNAM. 1994; 20-25.
 29. Chen SC, Zhang XP, Ni SF, Fu CX, Cameron KM. The systematic value of pollen morphology in Smilacaceae. – Pl. Syst. Evol. 2006; 259:19-37.
 30. Ferrufino L, Gómez J. Estudio morfológico de *Smilax* L. Smilacaceae en Costa Rica, con implicaciones sistemáticas. – Lankesteriana 2004; 4(1):5-36.
 31. Andreatta RHP. 1997: Revisão das espécies brasileiras do gênero *Smilax linnaeus* (Smilacaceae). – Pesquisas Bot. 47.
 32. Gao Y, Su Y, Qu L, Xu S, Meng L, Cai SQ, Shou C. Mitochondrial apoptosis contributes to the anti-cancer effect of *Smilax glabra* Roxb. Toxicol Lett. 2011; 207:112-120.
 33. Xu J, Li X, Zhang P, Li ZL, Wang Y. Antiinflammatory constituents from the roots of *Smilax bockii* warb. Arch Pharm Res. 2005; 4:395–399.

34. Rugna A, Polo J, Evelson P, Gurni AA, Llesuy S, Wagner ML. Antioxidant activity in rhizomes from *Smilax campestris* Griseb. Smilacaceae. *Mol Med Chem*. 2003; 1:21–25.
35. Chen T, Li JX, Xu Q, Komatsu K. A new flavanone isolated from rizoma *Smilacis glabrae*, and the structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage. *Plant Med*. 1999; 65:56–59.
36. Laitonjam WS, Kongbrailatpam BD. Studies on the chemical constituents and antioxidant activities of extracts from the roots of *Smilax lanceaeifolia* Roxb. *Nat Prod Res*. 2010; 24:1168–1176.
37. Cheng YB, Zhang DM, Yu SS. Chemical constituents of *Smilax perfoliata*. *Acta Bot Sin*. 2004; 46:618–620.
38. Sun TT, Zhang DW, Han Y, Dong FY, Wang W. Smilasides M and N, two new phenylpropanoid glycosides from *Smilax riparia*. *J Asian Nat Prod*. 2012; 2:165-170.
39. Zhang CL, Feng SX, Wang Q, Wang P, Xu J, Chen T. Flavonoids and phenolic compounds from *Smilax scobinicaulis*. *Chem Nat Comp*. 2014; 50:254–257.
40. Ao C, Higa T, Khanh TD, Upadhyay A, Tawata S. Antioxidant phenolic compounds from *Smilax sebeana* Miq. *LWT-Food Sci Technol*. 2011; 44:1681–1686.
41. Wu LS, Wang XJ, Wang H, Yang HW, Jia H, Jia AQ, Ding Q. Cytotoxic polyphenols against breast tumor cell in *Smilax china* L. *J Ethnopharmacol*. 2010; 130:460–464.
42. Ferrufino L. Taxonomic revision of the genus *Smilax* (Smilacaceae) in Central America and the Caribbean Islands. *Willdenowia*. 2020; 40(2):227-280.
43. Giraldo D, Baquero E, Bermúdez A, Oliveira MA. Medicinal plant trade characterization in popular markets of Caracas, Venezuela. *Acta Bot. Venez*. 2009; 32(2):267-301.
44. *Smilax officinalis*. El Herbolario Naturopático. Disponible en: <https://thenaturopathicherbalist.com/herbs/r-s/smilax-officinalis/>
45. Barry H. Antioxidantes: conceptos básicos: qué son y cómo evaluarlos. *Avances en Farmacología*. 1996; 38:3-20.

46. Barry H. Antioxidantes en la salud y las enfermedades humanas. Revisión Anual de Nutrición. 1996; 16:33-50.
47. Lachance PA, Nakat Z, Jeong WS. Antioxidantes: un enfoque integrador. Nutrición. 2001; 17(10):835-838.
48. Flieger J, Flieger W, Baj J, Maciejewski R. Antioxidantes: clasificación, fuentes naturales, medidas de actividad/capacidad y utilidad para la síntesis de nanopartículas. Materiales. 2021;14(15):4135.
49. Caroch M, Ferreira CFR. A revisa sobre antioxidantes, prooxidantes y controversias relacionadas: compuestos naturales y sintéticos, metodologías de detección y análisis y perspectivas futuras. Química de los alimentos. Toxico. 2013; 51:15-25.
50. Dalton TP, Shertzer HG, Puga A. Regulación de la expresión genética por oxígeno reactivo. Revisión anual de Farmacología y Toxicología. 1999; 39(1):67-101.
51. Munteanu IG, Apetrei C. Métodos analíticos utilizados para determinar la actividad antioxidante: una revisión. Revista Internacional de Ciencias Moleculares. 2021; 22(7):3380.
52. van den Berg R, Haenen GRMM, van den Berg H, Bast A. Aplicabilidad de un ensayo mejorado de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) para la evaluación de mediciones de capacidad antioxidante de mezclas. Química de alimentos. 1999; 66(4):511-517.
53. Bondet, V, Brand-Williams W, Berset C. Cinética y mecanismo de actividad antioxidante mediante el método de radicales libres DPPH. Lebensmo. Wiss. Tecnología. 1997; 30:609–615.
54. Foti MC. Uso y abuso del radical DPPH-. J. Agrícola. Química de los alimentos. 2015; 63:8765–8776.
55. Kawai A, Shibuya, K. Separación de energía entre estados de espín cuarteto y doblete de pares de encuentro radical-triplete; Interacción ferromagnética inusual en un par de coroneno triplete 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo. J. Física. Química. A. 2002; 106:12305–12314.
56. Chen O, Zhuang J, Guzzetta F, Lynch J, Angerhofer A, Cao YC. Síntesis de nanopartículas de 2,2'-difenil-1-picrilhidrazilo solubles en agua: un nuevo

- estándar para la espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica. *Mermelada. Química. Soc.* 2009; 131:12542–12543.
57. Yapıcı I, Altay A, Ozturk Sarikaya SB, Korkmaz M, Atila A, Gulcin I, Koksali E. Actividades antioxidantes y citotóxicas in vitro de extractos de *Tanacetum erzincanense* endémico junto con contenido fenólico por LC-ESI-QTOF-MS. *Química. Biodiversores.* 2021; 18:e2000812.
58. Xie J, Schaich KM. Reevaluación del ensayo de radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para determinar la actividad antioxidante. *J. Agrícola. Química de los alimentos.* 2014; 62:4251–4260.
59. Erdogan M, Polat Kose L, Essiz S, Gulcin I. Síntesis y evaluación biológica de algunos derivados de L-naftol como antioxidantes, acetilcolinesterasa, inhibidores de la anhidrasa carbónica. *Arco. Farmacéutica.* 2021; 354:e2100113.
60. Germer TA, Zwinkels JC, Tsai BK. Chapter 1 - Introduction. En: Germer TA, Zwinkels JC, Tsai BK, editores. *Experimental Methods in the Physical Sciences.* Academic Press; 2014. p. 1-9.
61. Akash MSH, Rehman K. Introduction to Spectrophotometric Techniques. En: Akash MSH, Rehman K, editores. *Essentials of Pharmaceutical Analysis.* Singapore: Springer Nature Singapore; 2020. p. 19-27.
62. Khalid K, Ishak R, Chowdhury ZZ. Chapter 15 - UV–Vis spectroscopy in non-destructive testing. En: Otsuki A, Jose S, Mohan M, Thomas S, editores. *Non-Destructive Material Characterization Methods.* Elsevier; 2024. p. 391-416.
63. Química analítica. Principio de la espectroscopia UV-Visible. Disponible en: <https://byjus.com/chemistry/principle-of-uv-visible-spectroscopy/>
64. DPPH. MedChemExpress. Disponible en: <https://www.medchemexpress.com/dpph.html>
65. Antioxidant Activity. Science Direct. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/antioxidant-activity>
66. Inhibitory Concentration 50. Science Direct. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/inhibitory-concentration-50>

67. Phenolic compound. Science Direct. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/phenolic-compound>
68. Valls J, Lampreave M, Nadal M, Arola L. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. Revista Alimentación, Equipos y Tecnología. 2000;19(2):119-124.
69. Brand W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 1995; 28(1):25-30.

ANEXOS

Anexo 1. Fotografías referidas a la recolección de la especie vegetal.



Anexo 2. Constancia de certificación de la especie vegetal.



UNAP

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 29-2022 AMAZ-UNAP

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

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por **PIERO BRANDO VELASQUEZ PEREZ** y **JOAO JUNIOR ARMAS MAYTAHUARI** bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; ha sido **DETERMINADA** en este centro de investigación y enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP** como se indica a continuación:

| Nº | FAMILIA | ESPECIE | AUTOR | NOMBRE COMÚN |
|----|-------------|--------------------------|--------------------------|------------------|
| 01 | SMILACACEAE | <i>Smilax cumanensis</i> | Humb. & Bonpl. ex Willd. | "zarza parrilla" |

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

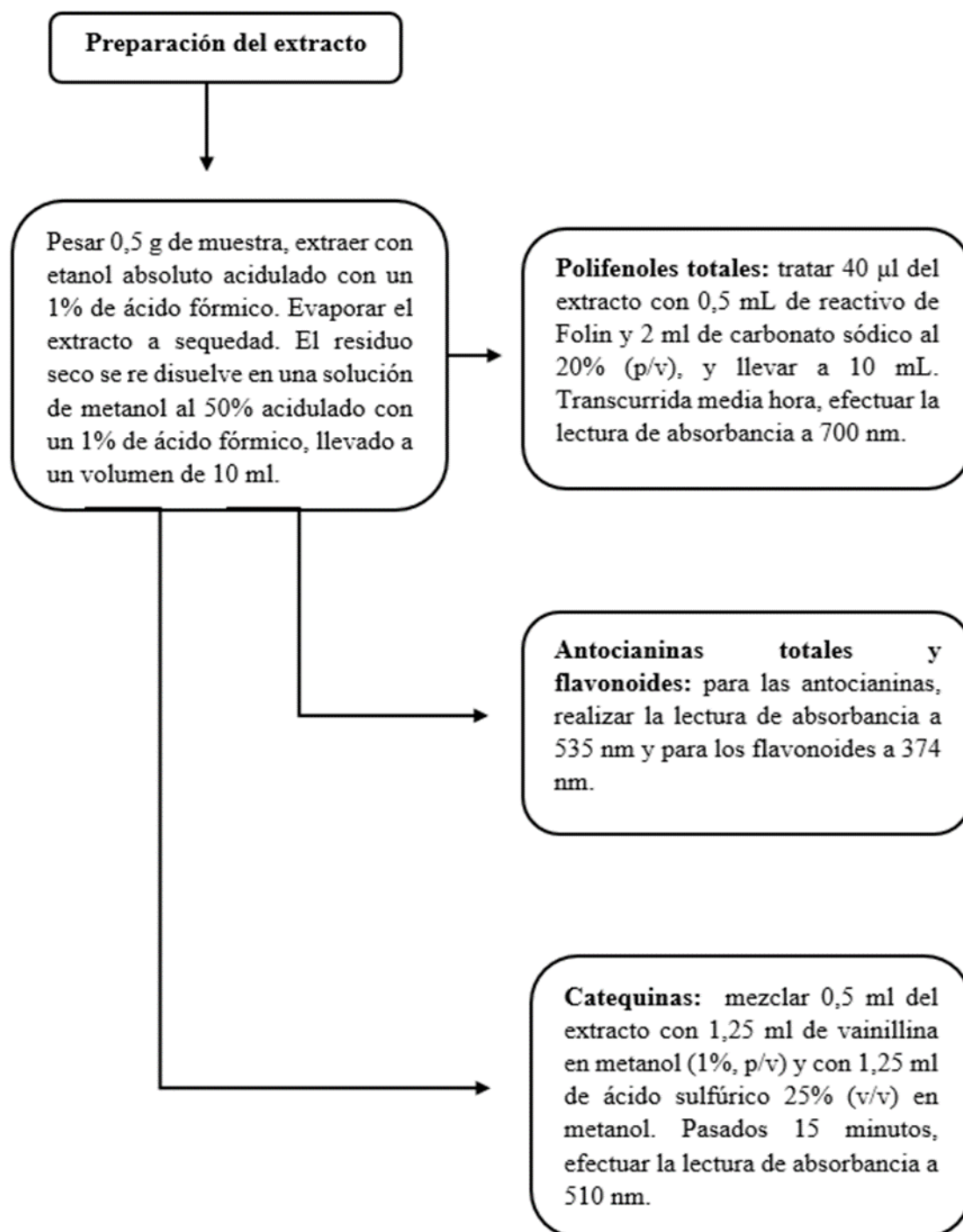
A los seis días del mes de setiembre del año dos mil veintidós, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard J. Huaranca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



Anexo 3. Flujoograma de compuestos fenólicos.

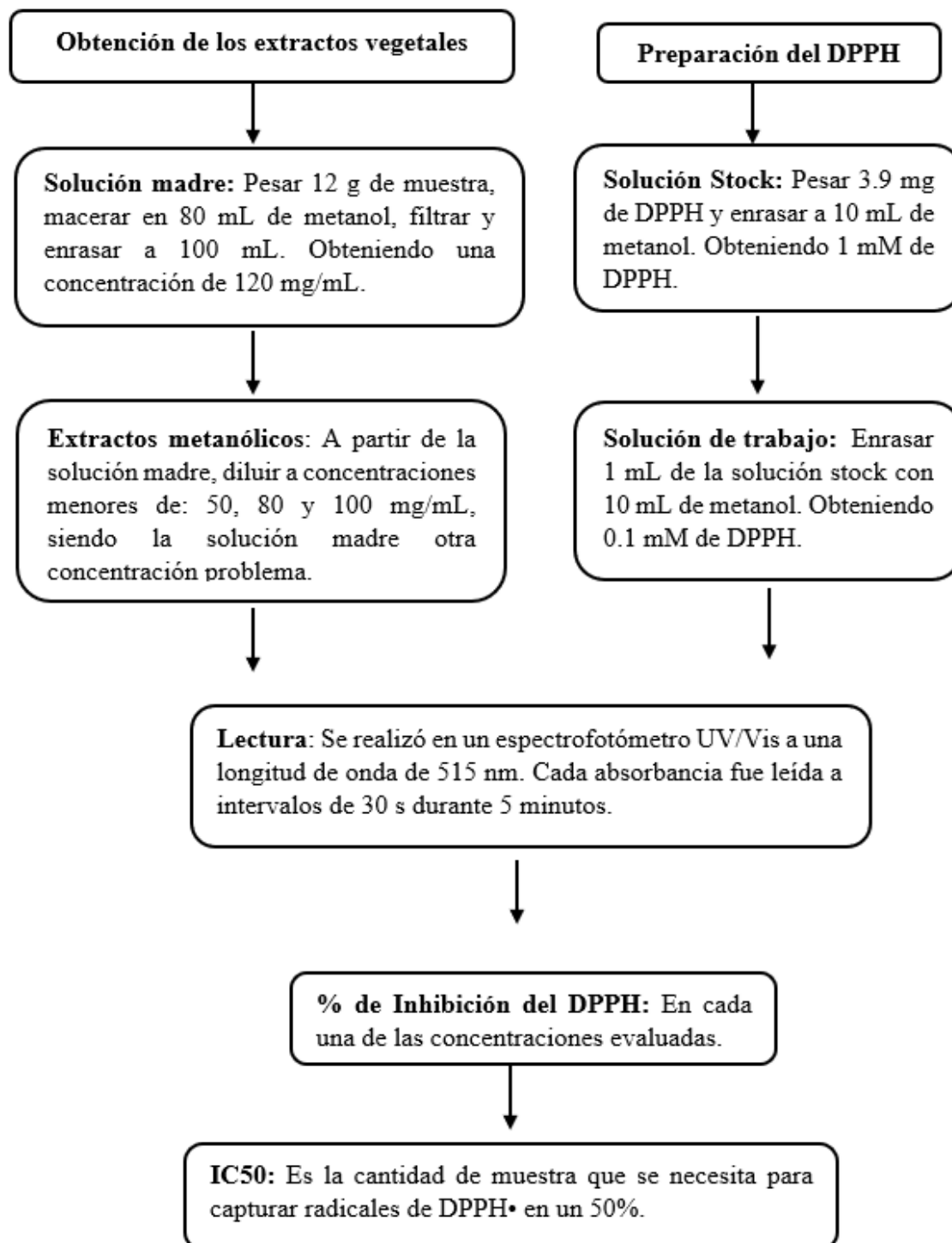


Anexo 4. Pesaje de la muestra seca de *S. cumanensis*(zarzaparrilla).



Pesada de muestra

Anexo 5. Flujograma de la Actividad Antioxidante *in vitro*.



Anexo 6. Instrumento de recolección de datos.

| Número de lecturas | Solución DPPH (0,1 mM) | Extracto líquido y seco de raíz <i>S. cumanensis</i> | | | Tipo de muestra |
|--------------------------------|----------------------------------|--|----------------|----------------|--------------------|
| | | Concentraciones evaluadas (mg/mL) | | | |
| | | 50 | 80 | 100 | |
| 1 | 0,807 | 0,445 | 0,406 | 0,353 | Líquida |
| 2 | 0,807 | 0,421 | 0,426 | 0,379 | |
| 3 | 0,807 | 0,417 | 0,404 | 0,379 | |
| 4 | 0,807 | 0,371 | 0,369 | 0,366 | Seca |
| 5 | 0,807 | 0,373 | 0,369 | 0,367 | |
| 6 | 0,807 | 0,370 | 0,367 | 0,367 | |
| Promedio | 0,807 | X ₁ | X ₂ | X ₃ | |
| Porcentaje de Inhibición, % | | X ₁ | X ₂ | X ₃ | |