



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE  
COMPARATIVA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS POLARES DE  
LAS PARTES AÉREAS DE *Ephedra americana* humb. & bonpl. ex  
*will* (PINCO-PINCO)**

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

**AUTORES:**

**BACH. CUELA SUPO, MAGNOLIA PAOLA**  
<https://orcid.org/0000-0002-6952-7420>

**BACH. MACHACCA AQUINO, JUANA YRIS**  
<https://orcid.org/0000-0001-7815-9765>

**ASESOR:**

**Mg. INOCENTE CAMONÉS, MIGUEL ANGEL**  
<https://orcid.org/0000-0003-0397-4356>

**LIMA - PERÚ**

**2022**

## **DEDICATORIA**

Para mis padres, familia y amigos, quienes me han brindado su constante apoyo en todo este camino.

Sin ustedes esto no habría sido posible.

Gracias

**Magnolia Paola Cuela Supo**

Primeramente, dedico el presente trabajo de investigación a mi hijo Edissandrito por darme inspiración y energías, para poder continuar con este gran paso en mi vida. A mi madre y hermanos por acompañarme en todo momento, A Sanderss, por estar apoyándome y dándome ánimos.

Gracias.

**Juana Yris Machacca Aquino**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a Dios por habernos permitido estar optima salud y poder concluir el presente trabajo de tesis.

También debemos de agradecer la constante orientación brindada por nuestro asesor el Dr. Q.F. Inocente Camonés, Miguel Ángel, agradeciendo la ayuda brindada durante el proceso de elaboración de esta tesis.

Un agradecimiento especial a nuestros docentes, amigos y familiares que estuvieron con nosotros a lo largo de este camino.

## ÍNDICE GENERAL

<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>3</b>
<b>ÍNDICE GENERAL.....</b>	<b>4</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>5</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>5</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS .....</b>	<b>5</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>7</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1. ENFOQUE Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO .....</b>	<b>12</b>
<b>2.3. VARIABLES DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOPIACIÓN DE DATOS....</b>	<b>13</b>
<b>2.5. PROCESO DE RECOPIACIÓN DE DATOS.....</b>	<b>13</b>
<b>2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>17</b>
<b>2.7. ASPECTOS ÉTICOS .....</b>	<b>18</b>
<b>III. RESULTADOS.....</b>	<b>19</b>
<b>IV. DISCUSIÓN .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
<b>4.2. CONCLUSIONES .....</b>	<b>28</b>
<b>4.3. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>28</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>30</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>33</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Determinación taxonómica de la parte Aérea del Pinco Pinco ( <i>Ephedra americana</i> Humb. & Bonpl. ex Will).....	<b>19</b>
<b>Tabla 2:</b> Datos obtenidos en la recolección del Pinco Pinco ( <i>Ephedra americana</i> Humb. & Bonpl. ex Will) .....	<b>19</b>
<b>Tabla 3:</b> Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto acuoso y extracto hidroalcohólico de Pinco Pinco.....	<b>20</b>
<b>Tabla 4:</b> Interpretación de resultados en el tamizaje fitoquímico de la parte Aérea del Pinco Pinco ( <i>Ephedra americana</i> Humb. & Bonpl. ex Will) .....	<b>21</b>
<b>Tabla 5:</b> De la cuantificación de compuestos fenólicos .....	<b>22</b>
<b>Tabla 6:</b> Resultados del patrón de referencia para DPPH: Trolox.....	<b>22</b>
<b>Tabla 7:</b> Estadística de Regresión.....	<b>23</b>
<b>Tabla 8:</b> Análisis de la Varianza (ANOVA).....	<b>23</b>
<b>Tabla 9:</b> Resultados de la capacidad antioxidante del extracto acuoso .....	<b>24</b>
<b>Tabla 10:</b> Resultados de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico ..	<b>25</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Reacción del radical con compuestos antioxidantes.....	<b>15</b>
<b>Figura 2:</b> Cálculo para la capacidad antioxidante con DPPH.....	<b>17</b>
<b>Figura 3:</b> Curva de calibración para compuestos fenólicos.....	<b>21</b>
<b>Figura 4:</b> Recta de Equivalente Trolox para DPPH. ....	<b>22</b>
<b>Figura 5:</b> Capacidad antioxidante del extracto acuoso uM Equiv. Trolox.....	<b>24</b>
<b>Figura 6:</b> Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico uM Equiv. Trolox..	<b>25</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A.</b> Operacionalización de las variables .....	<b>34</b>
<b>Anexo B.</b> Matriz de consistencia .....	<b>35</b>
<b>Anexo C.</b> Instrumentos para la recopilación de datos .....	<b>36</b>
<b>Anexo D.</b> Constancia de determinación de muestras.....	<b>38</b>
<b>Anexo E.</b> Evidencia del trabajo de campo (fotos).....	<b>39</b>

## RESUMEN

**OBJETIVOS:** La presente investigación plantea como objetivo realizar el Tamizaje Fitoquímico y Evaluar la Capacidad Antioxidante Comparativa in Vitro de los Extractos Polares de las partes aéreas de *Ephedra americana humb. & bonpl. ex will* (PINCO-PINCO).

**MATERIALES Y MÉTODOS:** La presente investigación tiene un enfoque analítico y un diseño experimental; para ello se utilizó una población de 10 kg de parte aérea de la especie vegetal *Ephedra americana Humb. & Bonpl. ex Will*. (Pinco-Pinco) la cual provino del Distrito de Yarabamba, provincia de Arequipa, departamento de Arequipa, a la cual se realizó una extracción acuosa e hidroalcohólica. La capacidad antioxidante fue determinada por el uso del método de espectroscopía para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH (Técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo).

**RESULTADOS:** Los resultados evidencian de manera positiva el objetivo de la investigación, así como también se puede observar la presencia de metabolitos secundarios, siendo los más abundantes: Compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, tanto en el extracto acuoso e hidroalcohólico. La determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH evidencian resultados positivos, en los extractos acuoso e hidroalcohólico, presentando la mayor concentración a 1000 ug/mL con un porcentaje de inhibición de: 82.154% y 97.038% respectivamente.

**CONCLUSIONES:** La investigación concluye dando como positivo la presencia de metabolitos secundarios con efecto antioxidante en el extracto acuoso e hidroalcohólico de *Ephedra americana humb. & bonpl. ex will* (PINCO-PINCO), así como el porcentaje de inhibición, por lo que se demuestra mayor capacidad antioxidante de *Ephedra americana humb. & bonpl. ex will* (PINCO-PINCO) en el extracto hidroalcohólico, mediante el análisis por el método DPPH.

**PALABRAS CLAVE:** *Ephedra americana*, antioxidante, DPPH, Porcentaje de inhibición, extracto hidroalcohólico, Pinco Pinco.

## ABSTRACT

**OBJECTIVES:** The present research aims to carry out the Phytochemical Screening and Evaluate the Comparative Antioxidant Capacity in Vitro of the Polar Extracts of the aerial parts of *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will (PINCO-PINCO).

**MATERIALS AND METHODS:** It presents an analytical approach and an experimental design; For this, a population of 10 kg of aerial part of the plant species *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco) which came from the Yarabamba District, Arequipa province, Arequipa department, to which an aqueous and hydroalcoholic extraction was carried out. The antioxidant capacity was determined by the use of the spectroscopy method for the determination of the antioxidant capacity by the DPPH method.

**RESULTS:** The results positively demonstrate the objective of the research, as well as the presence of secondary metabolites, the most abundant being: phenolic compounds, tannins, flavonoids, both in the aqueous and hydroalcoholic extract. The determination of antioxidant capacity by the DPPH method shows positive results, in the aqueous and hydroalcoholic extracts, presenting the highest concentration at 1000 ug / mL with an inhibition percentage of: 82.154% and 97.038% respectively.

**CONCLUSIONS:** The research concludes with the positive presence of secondary metabolites with antioxidant effect in the aqueous and hydroalcoholic extract of *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will (PINCO-PINCO), as well as the percentage of inhibition, which shows a greater antioxidant capacity of *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will (PINCO-PINCO) in the hydroalcoholic extract, by means of the analysis by the DPPH method.

**KEY WORDS:** *Ephedra americana*, antioxidant, DPPH, Percentage of inhibition, hydroalcoholic extract, Pinco Pinco.

## I. INTRODUCCIÓN

El año 2020 trajo consigo un escenario de caos para el sistema de salud mundial, debido a la aparición del virus SARS-CoV-2 muchos de los países con alta vigilancia sanitaria colapsaron, la pandemia de COVID-19 generó desabastecimiento de algunos medicamentos en diversas partes, generando el incremento en la demanda de los mismos y en consecuencia provocando un alza en el precio de algunos de ellos. (1)

Esta pandemia desató una serie de acontecimientos, en los cuales la población buscaba la manera de protegerse y tratarse de curar ciertas dolencias en base a tratamientos ancestrales empleando plantas medicinales, haciendo que la población se viera en la necesidad de utilizar productos de origen natural, para combatir los síntomas, esto ante una ausencia de medicamentos desabastecidos en el mercado farmacéutico. (1)

Durante el mes de febrero del 2021, el INS (Instituto Nacional de Salud), estimó que el 40% de toda la población peruana (32 millones), se contagió con el coronavirus. De los cuales hubo mayor contagio en la Capital, ante ello es de vital importancia hacer estudios en base a la actividad antioxidante, ya que dicha función nos ayuda a combatir a los radicales libres, fortaleciendo nuestra salud, mediante la regeneración de los vasos sanguíneos. (1)

En este escenario es importante realizar investigaciones que permitan el mejor uso y conocimiento de las propiedades de diversas plantas medicinales.

El Pinco Pinco cuenta con actividad inmunoestimulante, entre sus componentes contiene efedrina y pseudoefedrina. La planta es utilizada tradicionalmente en el tratamiento de asma, bronquitis, enfriamientos, resfriados, tos, fiebre, dolor de cabeza, congestión nasal y como un agente antialérgico. (2)

La *Ephedra americana* (Pinco Pinco) crece de manera abundantemente en las ciudades de Cusco, Arequipa y Cajamarca, a esta planta se le atribuyen concentraciones de metabolitos secundarios como flavonoides los cuales fueron objeto de estudio en nuestra investigación ya que cuentan con propiedades antioxidantes. Los antioxidantes son usados para evitar modificaciones indeseadas

debidas a la oxidación. La clasificación de los antioxidantes de acuerdo a su estructura química puede ser: fenoles, quinonas, aminas, enzimas, etc. (3)

El estudio de plantas que tengan propiedades antioxidantes es importante pues ayuda a futuras investigaciones enfocadas en la disminución de radicales libres, en los últimos años se han realizado investigaciones para determinar el papel de estos en el desarrollo de las enfermedades. (4). Nos hemos basado en los siguientes estudios para desarrollar nuestra investigación:

Yovera Sirlupú, V. P. (2019), evaluó el efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de Bixarellana (Achiote) en *Rattus rattus* var. *Albinus* con hepatotoxicidad inducida. En la parte de resultados de la investigación esta evidencia que el extracto hidroalcohólico de las hojas de Bixa Orellana (Achiote) presentó efecto antioxidante en *Rattus rattus* var. *Albinus* con hepatotoxicidad inducida, presentando el efecto antioxidante en las dosis de: 300mg/kgpc(0.0265  $\mu$ M de MDA) y 500mg/Kgpc(0.0180  $\mu$ M de MDA). Recomendando el uso de Bixa Orellana como parte de tratamiento en medicina natural en patologías asociadas a la oxidación, que puedan aquejar a la sociedad. (6)

Zapana John (2018), este trabajo de tesis se realiza esperando evaluar una respuesta tisular luego de la aplicación de extracto de Pinco-pinco (*Ephedra americana*) en tejido óseo y mucosa oral de cobayos del género *Cavia porcellus*. Trabajaron con una muestra de 16 cobayos divididos en 4 grupos y las concentraciones de extracto aplicadas estuvieron al 100%, 75% y 50%. Concluyeron que al extracto de *E. americana* inducía a la cicatrización de mucosa oral en 14 días, a diferencia de la cicatrización de tejido óseo el cual no se completó en los 28 días proyectados de aplicación, observando un desarrollo de vascularización en comparación con otros grupos. En consecuencia, determinaron que un tratamiento con extracto de *Ephedra americana* podría acelerar el proceso de regeneración de la mucosa oral como del tejido óseo. (5)

Chilquillo Torres, H. M., & Cervantes Macizo, R. G. (2017). Realizan el trabajo de investigación Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. "vira-vira", esta especie herbácea de uso medicinal analgésico y antiinflamatorio en el

cual se plantan investigar y corroborar sus efectos farmacológicos. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. “vira-vira” contiene en su composición alcaloides, triterpenos, flavonoides y saponinas. También concluyen que presenta mejor capacidad antiinflamatoria a una dosis de 500 mg/kg en comparación del patrón ibuprofeno 120mg/kg y prednisona 1,2mg/kg; mayor efecto analgésico en dosis de 1200 mg/kg en comparación de una solución referencia de Tramadol. Se evidencia una capacidad antioxidante determinada con la actividad de las enzimas SOD (176,52 y 184,11 U/mL) y GPx (6576,36 y 7039,02 U/mL) pues redujo los niveles de peroxidación lipídica de MDA (10,76; 7,κλ y 5,4 μmol/mL sangre), todas ellas comparadas con su el grupo control respectivo. (7)

Wajdy Al-Awaida (2018), Potenciales anticancerígenos, antiinflamatorios y antioxidantes in vitro de *Ephedra aphylla*, este estudio nos habla de los efectos medicinales de la variedad de E. aphylla, su análisis fitoquímico muestra la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos condensados, triterpenos y glucósidos cardiacos, compuestos que tienen actividad medicinal contra diversas enfermedades (11). Dando como resultado que muestra un fuerte potencial antiproliferativo contra las líneas celulares de cáncer de mama y que sus propiedades se pueden deber a la presencia de fitoquímicos como los alcaloides, fenoles y flavonoides. (12)

Hernán G. Bach (2017), elaboraron el trabajo “Dinámica de polifenoles en *Ephedra tweediana* Fisch & C. A. Mey. emend. J. H. Hunz. (Ephedraceae)”, en el cual analizan la planta *Ephedra tweediana* conocida como “tramontana”, utilizada en la medicina popular como antiasmática, realizando un análisis comparativos entre los extractos acuosos de los tallos herbáceos, lignificados y partes subterráneas de la planta, provenientes de géneros masculinos y femeninos. Encontraron que en los tallos se encontraba la mayor concentración de ácidos hidroxiamínicos totales y flavonoides, observando variaciones que corresponde al sexo de la planta y a las diferentes partes de la misma, por lo que las variaciones encontradas deben de ser tomadas en cuenta para realizar extractos o preparados pues puede variar su actividad biológica. (13)

Bouafia W (2020), Quantification of total bioactive contents and evaluation of the antioxidant and antibacterial activities of crude extracts from *Ephedra altissima*. La investigación describe la actividad biológica in vitro del extracto crudo de *Ephedra altissima*, los análisis fitoquímicos revelaron la presencia de diversas clases de metabolitos secundarios, se encontró que el extracto acuoso etanólico tuvo la mayor capacidad antioxidante en comparación al extracto acuoso. Todos los extractos mostraron efecto antibacteriano en las cepas estudiadas. Dando como conclusión que la planta *Ephedra altissima* podría usarse como una fuente de moléculas bioactivas naturales con propiedades antioxidantes y antibacterianas. (14).

Asimismo, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo general: Realizar el tamizaje fitoquímico y determinar la capacidad antioxidante comparativa *in vitro* de los extractos polares de la parte aérea de *Ephedra americana humb. & bonpl. ex will* (PINCO-PINCO).

Por ello se plantea como hipótesis general. El extracto polar de la parte aérea de *Ephedra americana humb. & bonpl. Ex Will* (PINCO – PINCO), tiene capacidad antioxidante, la cual está relacionada en forma proporcional a la concentración de extracto polar de nuestra investigación.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. ENFOQUE Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

#### a) Tipo de investigación

- **Analítico:** Se fijó la relación que hay entre las variables que forman parte del estudio.
- **Prospectivo:** El procedimiento de la recolección de los datos que forman parte del estudio, se realizaron después de iniciar con el trabajo de investigación.
- **Longitudinal:** Con respecto a la variable independiente, esta fue cuantificada en diferentes concentraciones.

#### b) Nivel de Investigación

- **Explicativo:** En la presente investigación los hechos se relacionaron basándose en una explicación en las que se vincule a la causa-efecto.

#### c) Método de la investigación

- **Deductivo:** Esta investigación hizo uso del conocimiento en que diversos extractos, elaborados de diferentes especies del reino vegetal tienen capacidad antioxidante, en consecuencia, se infiere que el extracto polar de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will (Pinco-Pinco), poseería la capacidad antioxidante.

#### d) Diseño de la investigación

- **Experimental:** Nuestra investigación fue de diseño experimental, pues se manipularon la variable independiente esto bajo control, empleando equipos tecnológicos que nos aseguraron obtener datos exactos, todo ello formando parte del desarrollo del método científico.

### 2.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

#### a) Población

- Se recolectó 10 kg de parte aérea de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco) del distrito de Yarabamba, Provincia y Departamento de Arequipa.

#### b) Muestra

- Se empleó 1 kg de parte aérea de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco) del distrito de Yarabamba, Provincia y Departamento de Arequipa.

### **c) Muestreo**

#### **- Criterios de inclusión**

Tallos en buen estado, verdes y hojas sanas.

#### **- Criterios de exclusión**

Tallos viejos, tallos amarillos, tallos perforados, tallos con presencia organismos ajenos a la planta.

## **2.3. VARIABLES DE INVESTIGACIÓN**

**a) Variable independiente:** Extracto polar de la parte aérea de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will (Pinco Pinco).

**b) Variable dependiente:** Capacidad antioxidante.

## **2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Se procedió a tabular los resultados de manera estructurada, en la cual se muestran plasmados todos nuestros datos obtenidos una vez concluimos el tamizaje fitoquímico y la capacidad antioxidante del extracto polar de la parte aérea de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco).

## **2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **A. Plan de recolección de datos.**

Nuestros resultados se obtuvieron dentro de las instalaciones del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD) y del Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru SAC.

### **B. Acondicionamiento de la muestra botánica**

Se procedió a limpiar las muestras vegetales de la parte aérea de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco); las cuales estuvieron comprendidas de tallos y hojas. Usando criterios de exclusión para aquellos especímenes vegetales que no se encontraban aptos para ser parte de estudio (hojas en mal estado, con presencia de manchas, marchitas, etc).

Una vez determinados los especímenes vegetales a utilizar, se eliminó residuos en el mismo tales como tierra, manchas, etc.; con agua potable y luego se

procedió a la desinfección de los mismos para la eliminación de posibles agentes contaminantes.

La muestra se tapa con papel filtro, evitando la exposición directa a la luz solar. Una vez seco la muestra se cortó en trozos más pequeños hasta un equivalente de 100mg de muestra.

### **C. Obtención del extracto polar de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco)**

**Extracto hidroalcohólico:** Una vez alcanzado el peso equivalente de 100 g en trozos de la parte aérea de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco), se transfirió la muestra a un recipiente de vidrio con capacidad nominal mínima de 1 litro, se procede añadir la solución hidroalcohólica de 70°, manteniendo una proporción de 1:10 de muestra/volumen (por cada litro de solución hidroalcohólica le corresponde 100 gramos de muestra), siempre dejando la muestra sumergida en el solvente durante 8 a 10 días, diariamente se procede a realizar movimientos de uniformización por 3 minutos en la mañana y tarde, al décimo día se procede a filtrar en un vaso precipitado beaker, el cual fue llevado a baño maría a temperatura de 40°C hasta la vaporación del solvente, posteriormente el extracto fue obtenido mediante raspado del beaker, utilizando una espátula de acero inoxidable, para luego ser trasvasado, pesado y rotulado en un receptáculo de vidrio color ámbar y se procedió a etiquetarlo.

**Extracto acuoso:** Luego de obtener 100 g de trozos de la parte aérea de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco), se sometieron a infusión, luego se procede a realizar la filtración, para luego finalmente proceder con la desecación y para ello se sometió la muestra a refrigeración a 5°C durante 3 días.

#### D. Aplicación de instrumentos de recolección de datos

En el análisis del presente trabajo de investigación se emplearon equipos analíticos como el espectrofotómetro ultravioleta – visible (UV.) Marca: Thermo Scientific, tubos de ensayo y reactivo DPPH de la empresa Sigma Aldrich.

#### E. Determinación de la capacidad antioxidante mediante la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)

Se determinó la capacidad antioxidante del extracto polar usando la técnica que utiliza el radical libre 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH), técnica elaborada por Brand- William y mejor conocida como DPPH. La técnica se basa en la reacción del radical con compuestos antioxidantes, mediante la cesión de un átomo de hidrógeno que es brindado por el agente antioxidante. La reacción presenta una fase inicial rápida, seguida por una reacción lenta, la cual puede medirse a través del tiempo por la disminución de la absorbancia en función del tiempo. La reacción química es una reacción de óxido – Reducción.

La reacción se presenta de la siguiente forma:



**Figura 1:** Reacción del radical con compuestos antioxidantes.

De acuerdo con la metodología el reactivo DPPH presenta un color azul-violeta intenso al inicio de la reacción, decolorándose a un amarillo ligero luego de reaccionar con el analito. Este cambio de color nos indica la transferencia de hidrógeno desde el antioxidante presente en la muestra hacia el reactivo, es decir que la variación de color en la muestra corresponde proporcionalmente a la capacidad antioxidante.

Esta es medida a través de Espectroscopia Ultravioleta – Visible (UV) la absorbancia del reactivo DPPH es de 517 nm, el valor de la misma se reduce progresivamente al contacto con el antioxidante. La variación en la absorbancia determino la actividad oxidante del analito y se calculó mediante la C.I.<sub>50</sub> (capacidad inhibitoria media) por medio del porcentaje de reducción de DPPH,

es decir C.I.<sub>50</sub> mide la concentración de antioxidantes requeridos para inhibir un 50% de las moléculas de DPPH, este proceso tiene un ciclo de tiempo aproximado que varía de 15 a 30 minutos, por lo que a menor cantidad de C.I.<sub>50</sub> se deduce una mayor capacidad antioxidante de la muestra. (16)

## Procedimiento

Se procedió a preparar las siguientes soluciones:

- Solución para el patrón de referencia: Solución metanólica de Trolox a 1000uM (tipo de solución: solución madre). Desde la solución madre del estándar de Trolox se realizaron disoluciones en metanol obteniendo soluciones de 100, 200, 400, 800 y 1000 uM, estas soluciones sirvieron para realizar la curva de calibración.
- Solución DPPH: solución metanólica de DPPH al 0.1 mM
- Solución Blanco: Se usaron 0,7mL del solvente (metanol) y se adicionó 1,4mL de DPPH con 1,4mL de metanol más y 0,7mL de agua desionizada, esta solución se usó para ajustar el espectrofotómetro a cero.
- Blanco de la muestra: 1,4mL de metanol más 0,7mL de muestra.
- Preparación de las muestras con solución DPPH: Se evaluó la capacidad antioxidante de acuerdo con el siguiente método; se usaron 3 tubos de ensayo y en ellos se colocaron 0,7 mL de cada muestra (extracto polar de *Ephedra americana Humb. & Bonpl. ex Will.* "Pinco-Pinco" en concentraciones de 100 ug/mL, 500ug/mL y 1000ug/mL), se le adicionó 1,4 mL de la solución DPPH a 0,1 mM, se homogenizó en vórtex y se dejó en reposo durante 30 minutos en temperatura ambiente y protegido de la luz, transcurrido este periodo, se procedió a cuantificar la absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro Ultravioleta-Visible. Los ensayos se realizaron en triplicado (n=3) y los cálculos se expresaron en porcentaje DPPH remanente (% DE INHIBICIÓN), así como también en equivalentes Trolox.
- El porcentaje de DPPH residual (% DE INHIBICIÓN) fue calculado según la fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = (A_i - A_f) / A_i \times 100$$

**Figura 2:** Cálculo para la capacidad antioxidante con DPPH.

Dónde:

- $A_i$ : Absorbancia inicial de DPPH
- $A_f$ : Absorbancia final de DPPH después de 30 min.

El cálculo realizado para la expresión de la capacidad antioxidante en equivalentes Trolox fue el siguiente:

- Se calculó la proporción porcentual de inhibición del radical DPPH con la fórmula descrita.
- Se calculó la capacidad antioxidante equivalente a Trolox. Se despejó X en la fórmula de la recta del estándar de Trolox ( $Y = a X + b$ ), se sustituyó el valor de la proporción porcentual de inhibición obtenida y se resolvió la fórmula.
- Al valor resultante se multiplicó por el factor de dilución correspondiente para obtener así la capacidad antioxidante equivalente al valor Trolox real. En el presente estudio correspondió a:  $4/0.1$  (donde 4 es el volumen final de reacción expresado en mL y 0,1 el volumen expresado en mL de la muestra tomada). Por lo que los resultados se expresaron finalmente en  $\mu\text{mol}$  de Trolox/100mL
- Finalmente, para expresar los resultados por gramo de producto, al valor correspondiente obtenido se multiplicó por el equivalente en gramos de muestra contenida en 100 mL. Se expresaron los resultados en  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox.

## 2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico que se empleó para establecer nuestros datos obtenidos fue utilizando el software Microsoft Excel y los cálculos de linealidad entre las variables de la capacidad antioxidante se llevó a cabo por regresión lineal. No obstante, se utilizó el análisis de varianza al 95%.

## **2.7. ASPECTOS ÉTICOS**

El presente trabajo de investigación se realizó respetando los preceptos de ética con los que debe de contar una investigación, declaramos que los datos consignados en la misma son válidos y legítimos, lo que le confiere la característica de ser fiable, oportuna y pertinente.

Las muestras utilizadas fueron de origen vegetal y los análisis desarrollados en esta fueron in vitro. Así mismo debemos indicar que los procesos efectuados se realizaron de acuerdo con normativas correspondientes a un laboratorio de investigación, dentro de las limitaciones en las cuales nos encontramos por la coyuntura actual.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Determinación taxonómica de Pinco Pinco

Tabla 1: Determinación taxonómica de la parte Aérea del Pinco Pinco (*Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Willd)

<b>Clase</b>	Equisetopsida C. Agardh
<b>Subclase</b>	Gnetidae Pax
<b>Orden</b>	Ephedrales Dumort
<b>Familia</b>	Ephedraceae Dumort
<b>Género</b>	<i>Ephedra</i> L.
<b>Especie</b>	<i>Ephedra americana</i> Humb. & Bonpl. Ex Willd

#### 3.2. Obtención de datos en recolección de Pinco Pinco

Tabla 2: Datos obtenidos en la recolección del Pinco Pinco (*Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Willd)

DATOS	RESULTADOS
<b>Nombre Común:</b>	Pinco Pinco
<b>Nombre Científico:</b>	<i>Ephedra americana</i> Humb. & Bonpl. ex will
<b>Lugar de Recolección:</b>	Departamento de Arequipa, Provincia de Arequipa, Distrito de Yarabamba
<b>Parte a utilizar:</b>	Parte Aérea
<b>Extracto a utilizar:</b>	Extracto Acuoso / Hidroalcohólico

### 3.3. Del tamizaje farmacognóstico

Tabla 3: Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto acuoso y extracto hidroalcohólico de Pinco Pinco.

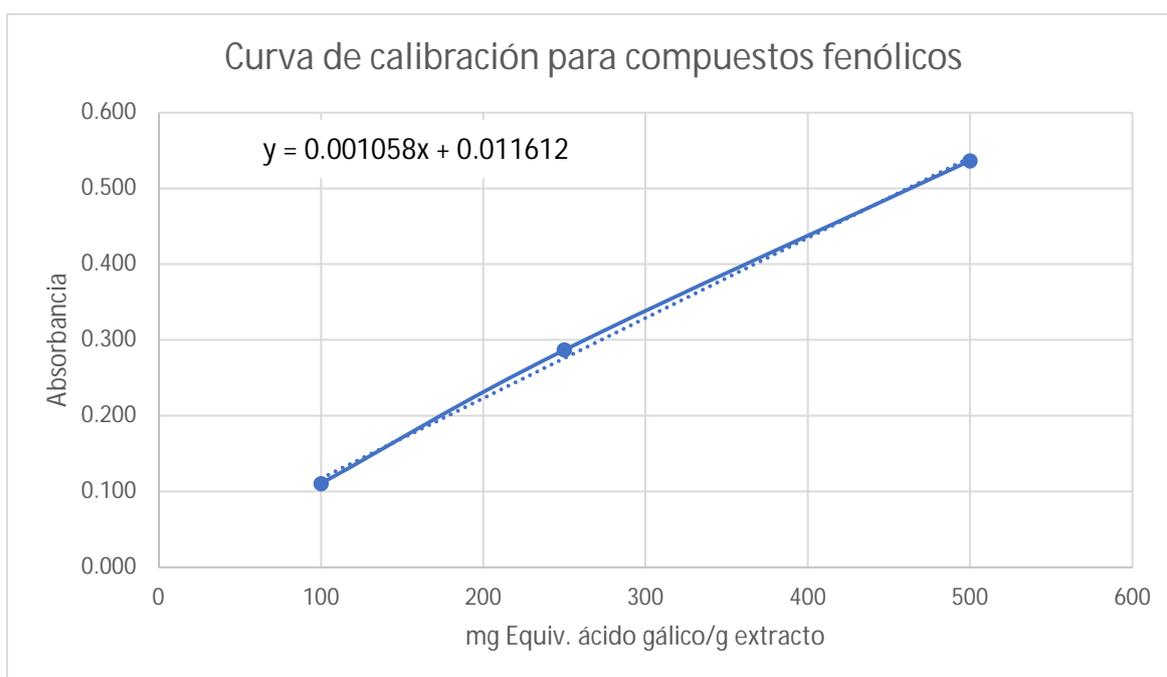
SUSTANCIAS QUÍMICAS CONSTITUTIVAS	ENSAYO	RESULTADO DE REACCIÓN	
		Extracto acuoso	Extracto hidroalcohólico
Compuestos fenólicos	Reactivo de FeCl <sub>3</sub> 5%	+++	+++
Taninos	Reactivo de Gelatina 1%	+++	+++
Flavonoides	Reactivo de Shinoda	+++	+++
Esteroides y triterpenoides	Reactivo de Liebermann Burchard	-	+
Cardenólidos	Reactivo de Baljet	-	++
Alcaloides	Reactivo de Dragendorff	+	++
	Reactivo de Mayer	+	++
Antraquinonas	Reactivo de Borntranger	-	-
Saponinas	Reacción Espuma	-	-

Tabla 4: Interpretación de resultados en el tamizaje fitoquímico de la parte Aérea del Pinco Pinco (*Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Will)

<u>Leyenda</u>	Resultado
Abundante	+++
Moderado	++
Leve	+
Ausencia	-

En la **tabla N° 04**. Se están presentando en forma detallada los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico en el extracto acuoso e hidroalcohólico de la parte aérea del Pinco-Pinco, dándonos como resultados una abundante presencia de Compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, tanto en el extracto acuoso e hidroalcohólico. Tales principios activos le confieren al extracto capacidad antioxidante. No obstante, en el extracto hidroalcohólico también hay presencia de: alcaloides y cardenólidos de carácter moderado.

### 3.4. De la cuantificación de compuestos fenólicos



**Figura 3:** Curva de calibración para compuestos fenólicos

**Tabla 5:** De la cuantificación de compuestos fenólicos

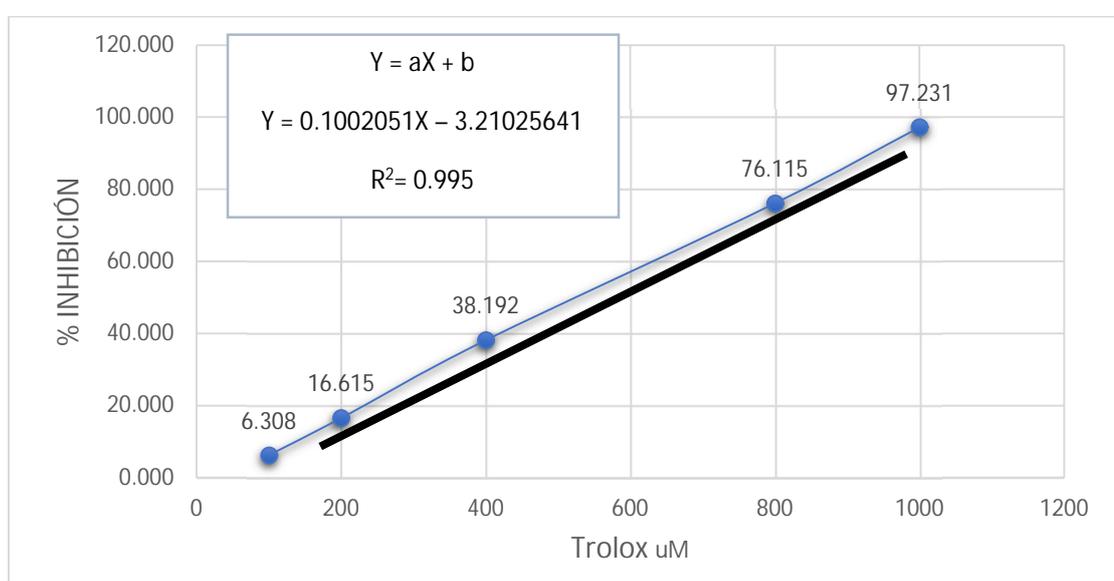
<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>EXTRACTO ACUOSO</b>	<b>EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO</b>
Cantidad de compuestos Fenólicos totales (expresado en miligramos de Equivalente ácido gálico/gramo de extracto seco)	5.229	8.174

En la **tabla N° 05**. Se estas representando los resultados obtenidos en el cual el extracto hidroalcohólico de la parte aérea del Pinco Pinco, presenta mayor cantidad de fenoles totales en comparación con el extracto acuoso

### 3.5. De la capacidad antioxidante según el método DPPH

**Tabla 6: Resultados del patrón de referencia para DPPH: Trolox**

ECUACIÓN RECTA DE TROLOX	100	200	400	800	1000
Absorbancias	0.814	0.721	0.536	0.204	0.028
Absorbancia Inicial DPPH: 0.8667	0.813	0.724	0.538	0.211	0.021
	0.809	0.723	0.533	0.206	0.023
Media de absorbancias	0.812	0.723	0.536	0.207	0.024
Absorbancia Inicial DPPH – promedio de Absorbancia TROLOX	0.055	0.144	0.331	0.660	0.843
Proporción Porcentual de Inhibición	6.308	16.615	38.192	76.115	97.231



**Figura 4:** Recta de Equivalente Trolox para DPPH.

**Figura N° 04:** Esta figura nos representa una recta que se obtuvo mediante el empleo del software Microsoft Excel, en los cuales están vinculados los “X” (Concentración de equivalente trolox), “Y” (Proporción porcentual de Inhibición), esta relación entre los ejes, nos da un valor  $R^2$  de 0.995, esto nos lleva a decir que hay un 99.5% de probabilidad de que a medida que mayor sea el valor del eje “X”, mayor será “Y”, dicha relación es directamente proporcional, esto asegurando que nuestros resultados serán positivos.

**Tabla 7: Estadística de Regresión**

<b>Estadísticas de la regresión</b>	
<b>Coefficiente de correlación múltiple</b>	0.99976
<b>Coefficiente de determinación R<sup>2</sup></b>	0.99953
<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	0.99938
<b>Error típico</b>	0.966

En la tabla N° 07. Están representados por datos estadísticos de regresión, a partir del programa Excel de Microsoft, donde podemos apreciar que el coeficiente de correlación múltiple obtenido nos da un resultado equivalente a 0.99976, este número es equivalente a 1, estos nos garantizan que hay una alta correlación entre la concentración del trolox (Variable X) y el porcentaje de inhibición (Variable Y)

**Tabla 8: Análisis de la Varianza (ANOVA)**

<b>ANÁLISIS DE VARIANZA</b>					
	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor crítico de F</b>
<b>Regresión</b>	1	6024.645	6024.600	6452.260	0.000
<b>Residuos</b>	3	2.801	0.934		
<b>Total</b>	4	6027.446			

En la **tabla N° 08**. Están representados los datos obtenidos mediante el programa Excel de Microsoft, respecto al Análisis de la Varianza (ANOVA) el cual tiene un grado de significancia de 95%, dato por el cual nos permite aceptar como también rechazar la hipótesis nula, a continuación, se procede con ello:

H<sub>0</sub>: No existe correlación entre el eje "X" y "Y"

H<sub>1</sub>: Existe correlación entre el eje "X" y "Y"

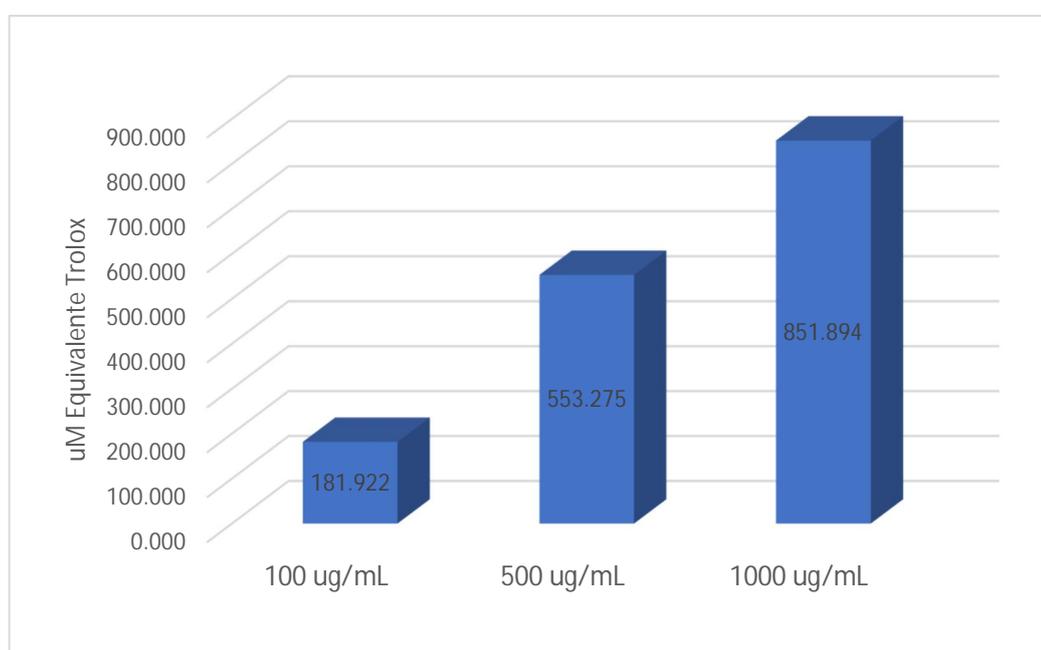
El valor crítico de F es 0.00, este dato es menor a 0.05 (grado de significancia al 95%), esto nos permite rechazar la hipótesis nula  $H_0$  y aceptar la hipótesis  $H_1$ , y al afirmar la  $H_1$  confirmamos que si hay relación entre nuestras variables “X” y “Y”

### 3.6. De la capacidad antioxidante del extracto acuoso

Utilizando el procedimiento DPPH, obtuvimos los siguientes resultados: 851.894 en 1000ug/mL, 553.275 en 500ug/mL y 181.922 en 100ug/mL, del extracto acuoso siendo estos valores expresados en uM Equivalente Trolox.

**Tabla 9: Resultado de la capacidad antioxidante del extracto acuoso**

<b>EXTRACTO ACUOSO DE PINCO PINCO</b>	<b>1000 ug/mL</b>	<b>500 ug/mL</b>	<b>100 ug/mL</b>
Absorbancias	0.157	0.416	0.735
(Absorbancia Inicial DPPH: 0.8667)	0.156	0.412	0.738
	0.151	0.413	0.734
Media de absorbancias	0.155	0.414	0.737
Absorbancia DPPH - Absorbancia Muestra	0.712	0.453	0.130
<b>Proporción porcentual de Inhibición</b>	<b>82.154</b>	<b>52.231</b>	<b>15.019</b>
uM Equivalente Trolox	851.894	553.275	181.922



**Figura 5:** Capacidad antioxidante del extracto acuoso uM Equiv. Trolox.

Figura N°05. En esta figura se evidencia los valores resultantes, posterior a la utilización del método DPPH, siendo directamente proporcional, esto quiere decir

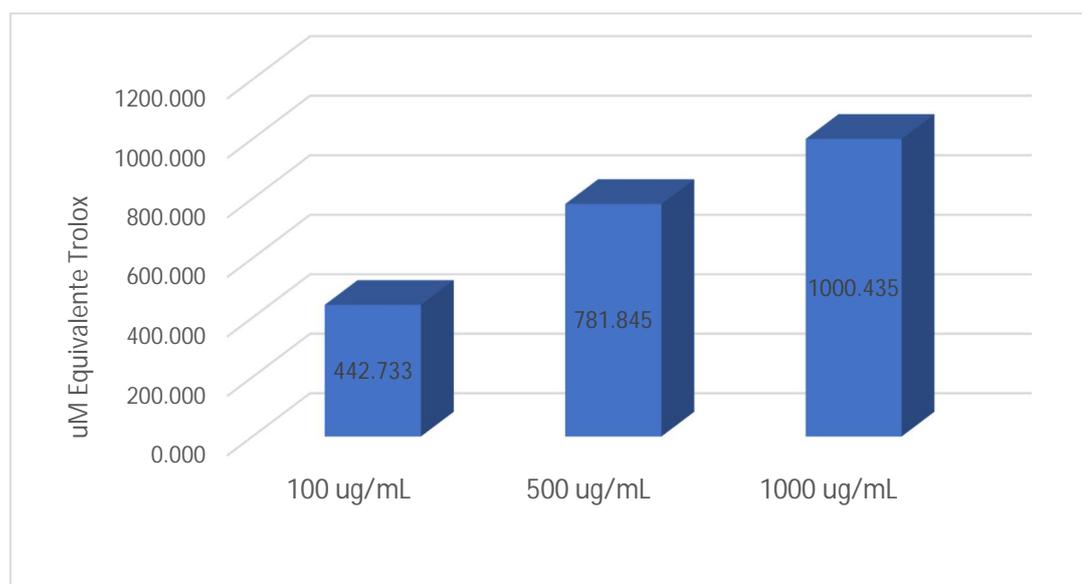
que, a mayor concentración del extracto acuoso, mayor será el porcentaje de inhibición, ello está representado mediante  $\mu\text{M}$  Equiv. Trolox.

### 3.7. De la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico

De acuerdo con el método de DPPH, se obtuvieron: 1000.435 para 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 781.845 para 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$  y 442.733 para 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$  del extracto hidroalcohólico, estos resultados fueron expresados en  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox.

**Tabla 10: Resultados de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico**

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO	1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Absorbancias (Absorbancia Inicial DPPH: 0.8667)	0.023	0.217	0.509
	0.028	0.214	0.511
	0.026	0.213	0.510
Media de absorbancias	0.026	0.216	0.510
Absorbancia del Blanco DPPH – Absorbancia de la Muestra (media)	0.841	0.651	0.357
<b>Proporción porcentual de Inhibición</b>	<b>97.038</b>	<b>75.135</b>	<b>41.154</b>
<b>uM Equivalente Trolox</b>	<b>1000.435</b>	<b>781.845</b>	<b>442.733</b>



**Figura 6:** Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico  $\mu\text{M}$  Equiv. Trolox

**Figura N° 06:** En esta figura se evidencia los valores resultantes, posterior a la utilización del método DPPH, siendo directamente proporcional, esto quiere decir

que, a mayor concentración del extracto hidroalcohólico, mayor será el porcentaje de inhibición, ello está representado mediante  $\mu\text{M}$  Equiv. Trolox.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de resultados

En nuestro trabajo de investigación se hizo identificación de metabolitos secundarios encontrándose abundante Compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, tanto en el extracto acuoso e hidroalcohólico. Así mismo se puede identificar la presencia de otros constituyentes químicos de interés como Cardenólidos y Alcaloides, los cuales también presentan propiedades medicinales y podrían ser sujeto de investigaciones posteriores.

Así como hay estudios referentes a la composición fitoquímica y capacidad antioxidante del Pinco Pinco, también hay estudios referentes a propiedades anticancerígenas y antiinflamatorias, tal es el caso de **Wajdy Al-Awaida (2018)**, sobre *Ephedra aphylla*, este estudio nos habla de los efectos medicinales de la variedad de *E. aphylla*, su análisis fitoquímico muestra la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos condensados, triterpenos y glucósidos cardiacos, compuestos que tienen actividad medicinal contra diversas enfermedades (11). Finalmente dando resultado que muestra un fuerte potencial antiproliferativo contra las líneas celulares de cáncer de mama y que sus propiedades se pueden deber a la presencia de fitoquímicos como los alcaloides, fenoles y flavonoides. (12)

**Hernán G. Bach (2017)**, trabajo con *Ephedra tweediana* Fisch & C. A. Mey. emend. J. H. Hunz., dicha planta pertenece a la misma familia del Pinco Pinco, la primera en mención se le atribuyen propiedades antiasmáticas, para ello compararon sus extractos acuosos en sus géneros (masculino y femenino), encontrando que el tallo posee mayor concentración de ácidos hidroxiamínicos totales y flavonoides, por lo que guarda relación en composición al Pinco Pinco, dichos datos serán considerados en cuenta, para comprobar su actividad biológica. (13)

En la investigación realizada por **Bouafia W (2020)**, donde realizaron la actividad biológica *in vitro* de *Ephedra altissima*, en diferentes extractos (acuoso y etanólico), hallando que el extracto etanólico, presenta mejor propiedad antibacteriana y antioxidante, esto es un indicio de que plantas de la misma familia también tengan dichas propiedades, lo cual se verificó en la investigación, ya que el extracto

hidroalcohólico del Pinco Pinco, si presento mayor porcentaje de inhibición que el extracto acuoso (14).

#### **4.2. Conclusiones**

1. Se realizó el tamizaje fitoquímico y se determinó la capacidad antioxidante comparativa *in vitro* de los extractos polares de la parte aérea de *Ephedra americana humb. & bonpl. ex will* (PINCO-PINCO), concluyendo que el extracto hidroalcohólico presenta mayor capacidad antioxidante, debido a su mayor contenido de fenoles.
2. Se identificó los principales metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico en los extractos polares de la parte aérea de *Ephedra americana humb. & bonpl. ex will* (PINCO-PINCO), siendo los más abundantes: Compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, tanto en el extracto acuoso e hidroalcohólico.
3. Se determinó la capacidad antioxidante comparativa *in vitro* del extracto acuoso de la parte aérea de *Ephedra americana humb. & bonpl. ex will* (PINCO-PINCO). Siendo directamente proporcional a su concentración: 100 ug/mL, 500 ug/mL y 1000 ug/mL, dando como resultados las siguientes proporciones porcentuales de inhibición 15.019%, 52.231% y 82.154% respectivamente
4. Se determinó la capacidad antioxidante comparativa *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la parte aérea de *Ephedra americana humb. & bonpl. ex will* (PINCO-PINCO). Siendo directamente proporcional a su concentración: 100 ug/mL, 500 ug/mL y 1000 ug/mL, con las siguientes proporciones porcentuales de inhibición 41.154%, 75.135% y 97.038% respectivamente

#### **4.3. Recomendaciones**

- A. Se recomienda el uso del Pinco Pinco, debido a su capacidad antioxidante, ya que dicha propiedad confiere al organismo humano mayor salud frente a diversas enfermedades.
- B. Nuestra investigación va orientada a ser información estimable, para poder inculcar a estudiantes de ciencias de salud y pacientes, la revalorización de las propiedades de especies vegetales con propiedad antioxidante, en zonas

aledañas, en las que un producto farmacéutico no es accesible a ellos y también a la población en general que quiera consumir productos naturales

C. Se recomienda en un futuro elaborar una forma farmacéutica, en base a nuestra especie vegetal, para luego hacerle examen de estabilidad y poder incentivar su uso masivo para toda la población que quiera mejorar su salud

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pecho S, Navarro A, Panduro V, Arteaga K. COVID-19: ¿cómo proteger a los que nos protegen? Rev Cubana Inv Bioméd. [Internet] 2020 [Consultado 10 May 2021]; 39(2). Disponible en: <http://www.revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/760/689> .
2. Ochoa W, Rodríguez L. Fitoterapia altoandina como potencial ante la COVID-19. Rev Cubana Inv Bioméd [Internet] 2021 [Consultado 10 May 2021]; 39(4). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002020000400018#B5](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002020000400018#B5) .
3. Bonilla P, Pareja B. Flavonoides de *Ephera americana* (pinco pinco), Acción biológica sobre el sistema inmunológico (IgE). Ciencia e investigación [Internet] 2001 [Consultado 9 May 2021]; 4(1). Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3398> .
4. Viada E, Gómez L, Campaña I. Estrés oxidativo. Correo Científico Médico [Internet] 2017 [Consultado 07 Abr 2021]; 21( 1 ). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1560-43812017000100014&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812017000100014&lng=es) .
5. Zapana J. Respuesta Tisular a la aplicación del extracto de Pinco-Pinco (*Ephedra americana*) en mucosa oral y tejido óseo de cobayos (*Cavia porcellus*) [Internet]. Puno – Perú; 2018. [Consultado 18 Oct 2021]. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/7144>
6. Yovera V. Efecto Antioxidante Del Extracto Hidroalcohólico De Hojas De *Bixa Orellana* (Achiote) En *Rattus Rattus* Var. *Albinus* Con Hepatotoxicidad Inducida. [Internet] Trujillo – Perú; 2019 [Consultado 7 abr 2021]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/10985>
7. Chilquillo H, Cervantes R. Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio Canescens* (*Humb. & Bonpl.*) Cuatrec. “vira-vira”. [Internet] Lima – Perú; 2017 [Consultado 7 abr

- 2021]. Disponible en:  
[https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6416/Chilquillo\\_th.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6416/Chilquillo_th.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
8. Arias A, Rueda L. Cinética de la reacción de los radicales libres con antioxidantes naturales, fenoles [Internet] Bucaramanga – Colombia; 2016 [Consultado 10 abr 2021]. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/profile/Anderson-Arias/publication/311678504\\_Cinetica\\_de\\_la\\_reaccion\\_de\\_los\\_radicales\\_libres\\_con\\_antioxidantes\\_naturales\\_fenoles/links/58540ae808ae81995eb1cdc3/Cinetica-de-la-reaccion-de-los-radicales-libres-con-antioxidantes-naturales-fenoles.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Anderson-Arias/publication/311678504_Cinetica_de_la_reaccion_de_los_radicales_libres_con_antioxidantes_naturales_fenoles/links/58540ae808ae81995eb1cdc3/Cinetica-de-la-reaccion-de-los-radicales-libres-con-antioxidantes-naturales-fenoles.pdf)
  9. Al-Awaida, Wajdy et al. “In vitro anticancer, anti-inflammatory, and antioxidant potentials of *Ephedra aphylla*.” Journal of cancer research and therapeutics vol. 14,6 (2018): 1350-1354. doi:10.4103/0973-1482.196760. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30488855/>
  10. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. Annu Rev Nutr. 1996;16:33-50. doi: 10.1146/annurev.nu.16.070196.000341. PMID: 8839918. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8839918/>
  11. Al-Awaida W, Al-Hourani BJ, Akash M, Talib WH, Zein S, Falah RR, Aburubaiha Z. In vitro anticancer, anti-inflammatory, and antioxidant potentials of *Ephedra aphylla*. J Cancer Res Ther. 2018 Oct-Dec;14(6):1350-1354. doi: 10.4103/0973-1482.196760. PMID: 30488855. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30488855/>
  12. Bach H, Iturbe N, Agudelo I, Wagner M, Ricco R. Dinámica de polifenoles en *Ephedra tweediana* Fisch & C. A. Mey. emend. J. H. Hunz. (*Ephedraceae*). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas [Internet]. 2017 [Consultado 12 abr 2021];16(1). Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85649119001>.
  13. Bouafia W, Mouffouk S, Haba H. Quantification of total bioactive contents and evaluation of the antioxidant and antibacterial activities of crude extracts

- from *Ephedra altissima* Desf. Acta Sci. Biol. Sci. [Internet]. 30º de março de 2021 [citado 8º de abril de 2021];43(1):e52123. Disponible en: <https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/52123>
14. Instituto Nacional del Cáncer. Antioxidantes y prevención del cáncer. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/dieta/hoja-informativa-antioxidantes#r5> [ Fecha de acceso: 07/04/2021).
15. Guija E, Inocente M, Ponce J, Zarzosa E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar la capacidad antioxidante. SciELO (scientific electronic library online) [Internet] Lima – Perú, Enero/Marzo 2015. [Consultado 28 Ago 2021] Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>
16. Vidaurre M, Querevalú L, De los Rios E, Ruiz S. Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. Rev. Med. Vallejana [Internet]. 2007. [Consultado 28 Ago 2021] Disponible en: <https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rmv/v04n2/pdf/a04v4n2.pdf>

## ANEXOS

## ANEXO A: Operacionalización de las variables

VARIABLE	SEGÚN SU INFLUENCIA	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA	ESCALA
Extracto polar de la parte área del Pinco Pinco	Variable Independiente	Es el volumen con el que se va a trabajar, para luego medir la capacidad que se le puede otorgar debido a su propiedad medicinal	Concentración del extracto Acuoso / Hidroalcohólico	100 ug/mL 500 ug/mL 1000 ug/mL	%	Cualitativa
Capacidad antioxidante	Variable Dependiente	Es la capacidad de un componente o sustancia de disminuir la concentración de radicales libres favoreciendo una acción antioxidante	Reducción del radical DPPH	% de reducción del radical DPPH	% de Inhibición	Cuantitativa

## ANEXO B: Matriz de Consistencia

PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN	OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p><b>Problema General</b></p> <p>-¿Los extractos polares de la parte aérea de <i>Ephedra americana humb. &amp; bonpl. ex will</i> (PINCO-PINCO), presentará capacidad antioxidante?</p> <p><b>Problemas específicos</b></p> <p>-¿Cuáles son los metabolitos presentes en los extractos polares de <i>Ephedra americana humb. &amp; bonpl. ex will</i> (PINCO-PINCO)?</p>	<p><b>Objetivo General</b></p> <p>- Realizar el tamizaje fitoquímico y determinar la capacidad antioxidante comparativa <i>in vitro</i> de los extractos polares de la parte aérea de <i>Ephedra americana humb. &amp; bonpl. ex will</i> (PINCO-PINCO)</p> <p><b>Objetivo específico</b></p> <p>Identificar los principales metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico en los extractos polares de la parte aérea de <i>Ephedra americana humb. &amp; bonpl. ex will</i> (PINCO-PINCO). Determinar la capacidad antioxidante comparativa <i>in vitro</i> del extracto acuoso de la parte aérea de <i>Ephedra americana humb. &amp; bonpl. ex will</i> (PINCO-PINCO). Determinar la capacidad antioxidante comparativa <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la parte aérea de <i>Ephedra americana humb. &amp; bonpl. ex will</i> (PINCO-PINCO).</p>	<p><b>Hipótesis General</b></p> <p>-El extracto polar de la parte aérea de <i>Ephedra americana humb. &amp; bonpl. ex will</i> (PINCO-PINCO), tiene capacidad antioxidante, la cual esta relacionada en forma proporcional a la concentración del extracto polar de nuestra investigación</p> <p><b>Hipótesis específicas</b></p> <p>-El extracto acuoso de la parte aérea de <i>Ephedra americana humb. &amp; bonpl. ex will</i> (PINCO-PINCO), Presenta capacidad antioxidante.</p> <p>-El extracto hidroalcohólico de la parte aérea de <i>Ephedra americana humb. &amp; bonpl. ex will</i> (PINCO-PINCO), Presenta capacidad antioxidante</p>	<p><b>Tipo de Investigación:</b></p> <p><b>-Analítico:</b> Se pretende fijar la relación que hay entre las variables que forman parte del estudio.</p> <p><b>-Prospectivo:</b> El procedimiento de la recolección de los datos que forman parte del estudio, se realizaran después de iniciar con la investigación.</p> <p><b>-Longitudinal:</b> La variable independiente será medida en diferentes medidas.</p> <p><b>Nivel de Investigación</b></p> <p><b>-Explicativo:</b> Se pretende relacionar los hechos basándose en una explicación en las que se vincule la causa-efecto.</p>	<p><b>Método de la investigación</b></p> <p><b>Deductivo:</b> Esta investigación hace uso del conocimiento en que diversos extractos elaborados de diferentes especies vegetales, tienen capacidad antioxidante, por ello se deduce que el extracto polar de <i>Ephedra americana</i> Humb. &amp; Bonpl. ex Will (Pinco- Pinco), tendrán esta actividad.</p> <p><b>Diseño de la investigación</b></p> <p><b>Experimental:</b> Esta investigación es de este diseño. Ya que se manipulará la variable independiente, esto bajo control, empleando equipos tecnológicos que nos aseguran de obtener datos exactos, todo ello formando parte del proceso del método científico.</p>	<p><b>Variable Independiente</b></p> <p>- Extracto polar de la parte aérea de <i>Ephedra americana</i> Humb. &amp; Bonpl. ex Will (Pinco Pinco).</p> <p><b>Variable Dependiente</b></p> <p>- Capacidad antioxidante</p>	<p><b>Población y muestra</b></p> <p><b>Población:</b> Se recolectó 10 kg de parte aérea de <i>Ephedra americana</i> Humb. &amp; Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco) del distrito de Yarabamba, Provincia y Departamento de Arequipa.</p> <p><b>Muestra:</b> Se empleó 1 kg de parte aérea de <i>Ephedra americana</i> Humb. &amp; Bonpl. ex Will. (Pinco-Pinco) del distrito de Yarabamba, Provincia y Departamento de Arequipa.</p> <p><b>Muestreo</b></p> <p><b>Criterios de inclusión</b></p> <p>Tallos en buen estado, verdes y hojas sanas.</p> <p><b>Criterios de exclusión</b></p> <p>tallos viejos, tallos amarillos, tallos perforados, tallos con hongos.</p>

## ANEXO C: Instrumentos para la recopilación de datos

### Determinación taxonómica de Pinco Pinco

Clase	
Subclase	
Orden	
Familia	
Género	
Especie	

### Obtención de datos en recolección de Pinco Pinco

DATOS	RESULTADOS
Nombre Común:	
Nombre Científico:	
Lugar de Recolección:	
Parte de la planta a utilizar:	
Extracto a utilizar:	

### Del tamizaje farmacognóstico

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN	
		Extracto acuoso	Extracto hidroalcohólico
Carbohidratos	Rvo. Molish		
Azúcares reductores	Rvo. Fehling		
Compuestos fenólicos	Rvo. FeCl <sub>3</sub> 5%		
Taninos	Rvo. Gelatina 1%		
Flavonoides	Rvo. Shinoda		
Esteroides y triterpenoides	Rvo. Liebermann Burchard		

<b>Cardenólidos</b>	Rvo. Baljet		
<b>Alcaloides</b>	Rvo. Dragendorff		
	Rvo. Mayer		
<b>Antraquinonas</b>	Rvo. Borntranger		
<b>Saponinas</b>	Rx. Espuma		

### Interpretación de resultados en el tamizaje fitoquímico

<b>Leyenda</b>	<b>Resultado</b>
Abundante	+++
Moderado	++
Leve	+
Ausencia	-

### Resultados de la capacidad antioxidante del extracto acuoso

<b>EXTRACTO ACUOSO DE PINCO PINCO</b>	<b>1000 ug/mL</b>	<b>500 ug/mL</b>	<b>100 ug/mL</b>
Absorbancias (Abs. Inicial DPPH: 0.8667)			
Promedio de absorbancias			
Abs. DPPH - Abs. Muestra			
<b>% Inhibición</b>			
uM Equivalente Trolox			

### Resultados de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico

<b>EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO</b>	<b>1000 ug/mL</b>	<b>500 ug/mL</b>	<b>100 ug/mL</b>
Absorbancias (Abs. Inicial DPPH: 0.8667)			
Promedio de absorbancias			
Abs. Blanco DPPH - Abs Muestra (promedio)			
<b>% Inhibición</b>			
uM Equivalente Trolox			

## ANEXO C: Constancia de Determinación de Muestras



**INSTITUTO CIENTÍFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)**  
Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos

Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGGSPFFS



" Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia "

### CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN DE MUESTRAS N° 012-2021

La constancia se emite en referencia al cambio del título del proyecto de la constancia N° 005-2021, lo cual deja sin efecto dicha constancia.

El Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD).

#### HACE CONSTAR:

Que la muestra presentada por los Srs. **Srtas. Juana Yris Machacca Aquino y Paola Magnolia Cuela Supo**, recolectada en el distrito de Yarabamba, provincia de Arequipa, departamento de Arequipa con coordenadas 16°30'24.3"S 71°29'45.6"W, para la realización de la tesis: "**Tamizaje fitoquímico y capacidad antioxidante comparativa in vitro de los extractos polares de las partes aéreas de *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Willd. (Pincó-Pincó)**", fue determinada taxonómicamente en las instalaciones del Herbario del Instituto Científico Michael Owen Dillon, "Herbario Sur Peruano" (HSP), y corresponde a:

**Clase:** Equisetopsida C. Agardh

**Subclase:** Gnetidae Pax

**Orden:** Ephedrales Dumort.

**Familia:** Ephedraceae Dumort.

**Género:** *Ephedra* L.

**Especie:** *Ephedra americana* Humb. & Bonpl. ex Willd.

La clasificación se ha realizado según la propuesta por: *Angiosperm Phylogeny Group (APG) IV* en "*An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV*" (2016).

Se expide la presente, a solicitud del interesado, para los fines que estime convenientes.

Arequipa, 7 de setiembre del 2021



Dr. Blgo. Víctor Quipuscoa Silvestre  
C. B. P. N° 2484

Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)  
Herbario Sur Peruano (HSP)  
vquipuscoas@hotmail.com  
vquipuscoa@imod.org.pe



Dirección: Av. Jorge Chávez No. 610 Cercado, Arequipa - Perú  
Página web: <http://www.imod.org.pe/>  
Correo: [imod.per@gmail.com](mailto:imod.per@gmail.com)

**ANEXO E: Evidencia del trabajo de campo (Fotos)**



