

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUÍMICA

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y FOTOPROTECTORA *in vitro* DE UNA CREMAGEL ELABORADA A BASE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico)

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico

TESISTAS:

Bach: RABANAL HURTADO, DIANA LIBIA

Bach: SALCEDO CHAVEZ, JUAN CARLOS

ASESOR:

Mg. MIGUEL ANGEL INOCENTE CAMONES

LIMA – PERÚ

2019

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a nuestros Padres que con su guía, esfuerzo y apoyo incondicional pudimos culminar nuestra etapa de estudios y llegar a ser las personas que somos hoy en día, ya que de ellos fueron la motivación para alcanzar nuestros anhelos, de igual manera a nuestras familias que siempre estuvieron con nosotros brindándonos su guía, consejos y de alguna manera también fueron partícipes de este logro. A todos ellos muchas Gracias

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por habernos acompañado y guiado a lo largo de nuestra carrera profesional, por ser la fortaleza, luz y apoyo en los momentos de debilidad.

Le damos gracias a nuestro asesor de tesis el Mg. Miguel Inocente Camones ya que con su conocimiento, experiencia y guía pudimos culminar el presente trabajo.

A todos los profesores que a lo largo de nuestros años de estudios nos brindaron sus conocimientos y enseñanzas para poder llegar alcanzar nuestras metas profesionales.

A todos los compañeros y las personas que pudimos conocer en nuestra etapa de aprendizaje en las aulas ya que de forma directa o indirecta influyeron y fueron partícipes de este proyecto

ÍNDICE

Acta de sustentación	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice de figuras	
Índice de tablas	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1. Descripción de la realidad problemática	3
1.2. Problema	3
1.2.1. Problema General	3
1.2.2. Problemas Específicos	4
1.3. Objetivo	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos.	4
1.4. Justificación	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1. Antecedentes del Estudio	6
2.1.1. Nacionales	6
2.1.2. Internacionales	8

2.2. Bases Teóricas	10
2.2.1. Radiación solar	10
2.2.2. Radiación ultravioleta	11
2.2.3. La piel	14
2.2.4. Antioxidantes	15
2.2.5. Fotoprotección	16
2.2.6. <i>Piper elongatum</i> Vahl. var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel. (matico)	19
2.3. Hipótesis	21
2.3.1. Hipótesis general	21
2.3.2. Hipótesis específicas	21
2.4. Variables	21
2.4.1. Tabla operacional de variables	21
2.5. Marco conceptual	21
CAPÍTULO III: MÉTODO	
3.1. Tipo de estudio	25
3.2. Diseño a utilizar	25
3.3. Población	25
3.4. Muestra vegetal	25
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	26
3.6. Procesamiento de datos	27
3.6.1. Material vegetal	27
3.6.2. Tamizaje fitoquímico	27
3.6.3. Cromatografía en capa fina	29
3.6.4. Elaboración de la crema gel	29

3.6.5. Determinación <i>in vitro</i> de la actividad antioxidante método DPPH	31
3.6.6. Determinación <i>in vitro</i> de la actividad antioxidante método ABTS	33
3.6.7. Determinación <i>in vitro</i> del factor de protección solar (FPS)	35
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	
4.1. Presentación de resultados	37
4.1.1. Tamizaje fitoquímico	37
4.1.2. Cromatografía capa fina	37
4.1.3. Actividad antioxidante <i>in vitro</i> por método de DPPH	38
4.1.4. Actividad antioxidante <i>in vitro</i> por método de ABTS	43
4.2. Discusión de resultados	49
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1. Conclusiones	51
5.2. Recomendaciones	51
REFERENCIAS	53
ANEXOS	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Valores del índice de luz ultravioleta.	13
Tabla 2:	Valores de la eficacia de los productos de protección solar	19
Tabla 3:	Tamizaje fitoquímico.	28
Tabla 4:	Solución para cromatografía.	29
Tabla 5:	Relación del efecto eritemogénico (EE) versus la intensidad de la radiación (I) en cada longitud de onda.	36
Tabla 6:	Resultados del tamizaje fotoquímico	36
Tabla 7:	Resultados del patrón de referencia para DPPH: Trolox	38
Tabla 8:	Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en el ambiente - DPPH.	39
Tabla 9:	Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en la estufa - DPPH	40
Tabla 10:	Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en el rotavapor - DPPH	41
Tabla 11:	Resultados del análisis de la cremagel del extracto metanólico del matico secado en rotavapor - DPPH	42
Tabla 12:	Resultados del patrón de referencia para ABTS: Trolox	43
Tabla 13:	Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en el ambiente - ABTS	44
Tabla 14:	Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en la estufa - ABTS	45
Tabla 15:	Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en el rotavapor - ABTS	46
Tabla 16:	Resultados del análisis de la crema gel del extracto metanólico del matico secado en el rotavapor - ABTS	47
Tabla 17:	Resultados del análisis de la crema gel del extracto metanólico del matico secado en el rotavapor en FPS <i>in vitro</i>	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:	Espectro de luz visible	10
Figura 2:	Radiación Infrarroja	11
Figura 3:	Radiación Ultravioleta	11
Figura 4:	Radiación UV en la piel	13
Figura 5:	Estructura de la piel	14
Figura 6:	Estructura botánica del <i>piper elongatum</i> Vahl. var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel. (matico).	19
Figura 7:	Recta de Trolox para DPPH	38
Figura 8:	Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en el ambiente - DPPH	39
Figura 9:	Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en la estufa - DPPH	40
Figura 10:	Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado por rotavapor - DPPH	41
Figura 11:	Actividad antioxidante de la crema gel del extracto metanólico del matico secado en rotavapor - DPPH	42
Figura 12:	Recta de Trolox para ABTS	43
Figura 13:	Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en ambiente - ABTS.	44
Figura 14:	Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en estufa - ABTS	45
Figura 15:	Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en rotavapor - ABTS	46
Figura 16:	Actividad antioxidante de la crema gel del extracto metanólico del matico secado en rotavapor - ABTS	47
Figura 17:	Actividad fotoprotectora de la crema gel del extracto metanólico del matico secado en rotavapor <i>in vitro</i>	48

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1:	Certificado del análisis botánico de la planta	57
Anexo 2:	Fotos de la parte experimental	58
Anexo 3:	Matriz de consistencia	64

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antioxidante y fotoprotectora de la cremagel elaborada con el extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico). Se realizó un tipo de estudio experimental, *in vitro*, cuantitativo. Se trabajó con extracto: al ambiente, con rotavapor y en estufa, de hojas de la planta recolectada del distrito Pichirua de la provincia de Abancay departamento de Apurímac Perú, se realizó un estudio fitoquímico y la determinación de la capacidad antioxidante por el método espectrofotométrico utilizando el radical DPPH y ABTS y se evaluó el Factor de Protección Solar (FPS) mediante la metodología *in vitro* descrita por Mansur. Se evidenció la presencia de metabolitos secundarios los cuales fueron: Alcaloide (Dragendorff, Mayer, Wagner), compuestos fenólicos, Cumarinas, flavonoides, quinonas y taninos. La crema gel elaborada con extracto metanólico de hojas de matico al 1%, presentó capacidad antioxidante 163,919 uM (método DPPH) y una capacidad antioxidante de 121,400 uM (método ABTS), y un factor de protección solar de 5,334.

Palabras clave: Actividad antioxidante y fotoprotectora, *Piper elongatum*, radiación ultravioleta.

ABSTRACT

The objective of the study is to evaluate the antioxidant and photoprotective activity of cremagel made with the methanolic extract of the leaves of *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico). A type of experimental study was carried out, in vitro, quantitative. Work was carried out with an extract: to the environment, with a rotary evaporator and in a stove, of leaves of the plant collected from the Pichirua district of the province of Abancay department of Apurímac Peru, a phytochemical study and the determination of the antioxidant capacity by the spectrophotometric method was carried out using the DPPH and ABTS radical and the Sun Protection Factor (SPF) was evaluated using the in vitro methodology described by Mansur. The presence of secondary metabolites was evidenced which were: alkaloid (Dragendorff, Mayer, Wagner), phenolic compounds, coumarins, flavonoids, quinones and tannins. The gel cream made with methanolic extract of 1% matico leaves, has an antioxidant capacity 163,919 uM (DPPH method) and an antioxidant capacity of 121,400 uM (ABTS method), and a sun protection factor of 5,334.

Key words: Antioxidant and photoprotective activity, *Piper elongatum*, ultraviolet radiation.

INTRODUCCIÓN

La piel es una capa delgada que nos protege del entorno y de las agresiones que se encuentran en nuestro entorno sirviendo de barrera protectora. La epidermis tiene tres funciones de protección: barrera impermeable de sustancias químicas, protección frente al sol por la presencia de melanocitos y como barrera inmunológica presencia de las células de Langerhans ¹.

El sol es una fuente que nos ayuda en el tratamiento para personas que sufren de algún tipo de depresión, y también es necesario para síntesis de la vitamina D, necesaria para fijar el calcio en nuestros huesos, siendo un aproximado de 15 minutos de estar expuesto a sus rayos necesarios para estos beneficios ya que una exposición por más tiempo podría producir daños irreversibles en la piel que son producidos por la radiación UV. La radiación UV se presenta de tres formas: la radiación UVA es más peligrosa porque penetra profundamente en la piel siendo la causante de las enfermedades crónicas en la piel, la radiación UVB estimula el bronceado en particular, pero puede producir quemaduras solares, la radiación UVC no llega a penetrar en la tierra ya que su onda es muy corta y se desvanece. La radiación UVA y UVB pueden causar alteraciones en el ADN de nuestras células provocando el desarrollo de cáncer a la piel si se exponen en largos periodos de tiempo ².

La piel foto dañada muestra diferentes síntomas de una piel senil. Las características de una piel foto envejecida son: la presencia de aspereza, superficie apergaminada, disminución de la elasticidad cutánea y existencia de arrugas finas y profundas, siendo posteriormente frecuente la aparición de lesiones pigmentadas específicas (lentigos e hipo melanosis guttata) y la posibilidad de lesiones pre malignas y malignas como queratosis actínicas y de epitelomas basocelulares y escamosos, así como melanomas ³.

La variedad de plantas tiene gran uso en la población desde muchos años atrás, su consumo no solo se utiliza como una alternativa alimenticia, sino también como medicina tradicional haciendo uso de diversas especies vegetales para curar enfermedades o aliviar las dolencias, el *Piper elongatum* es una planta, de la familia *Piperaceae*, con nombre común matico. Es originaria de América del Sur, por lo que se distribuye de manera especial en el Perú, Bolivia, Ecuador,

Brasil, Paraguay y norte de Argentina, principalmente en sitios húmedos. Se adapta fácilmente a cualquier clima se encuentra en 3 500 metros sobre el nivel del mar, tiene propiedades para aliviar malestares que afectan la salud ⁴.

Dentro de las propiedades podemos observar su actividad antioxidante, propiedades antiparasitarias, antiinflamatorias, fungicidas y cicatrizante. Esta planta es ampliamente utilizada, a través de la cocción de sus hojas, como antidiarreica, por su contenido de alcaloides, y propiedades relajantes del musculo liso ^{5,6}.

El objetivo principal del presente trabajo es evaluar la actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una cremagel elaborado del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico) con la finalidad de determinar su potencia antioxidante y fotoprotectora.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

La piel es un órgano elástico, que actúa como protectora defendiendo al organismo de los daños que puede ocasionar el medio ambiente, la población, la radiación solar, el humo del tabaco entre otros generando radicales libres que puede ser destructivos para las proteínas y hasta el ADN sufriendo daños lo que provocaría alteraciones que puede ir desde el envejecimiento prematuro al cáncer. Según el National Weather Service y la Environmental Protection Agency (EPA) una exposición del índice de luz ultravioleta menor a 2 suelen ser muy beneficiosas para la salud generando la producción de la vitamina D, en los últimos años los niveles de radiación ultravioleta están en su valor máximo por lo que la exposición pueden generar efectos negativos disminuyendo de las defensa de la piel ⁷.

Los seres vivos estamos más propensos a sufrir de enfermedades en especial en la piel por el aumento de los niveles de radiación ultravioleta siendo las quemaduras solares y el cáncer de piel las enfermedades más representativas. La exposición continua a los rayos solares ayuda con la formación elevada de los radicales libres. El estrés oxidativo es la producción creciente de especies reactivas de oxígeno (EROS) en elevadas cantidades de las defensas antioxidantes celulares trae como consecuencia daños a los lípidos, proteínas y ADN, generando el desarrollo de algunas patologías ⁸.

La industria cosmética y química ha formulado una serie de productos para evitar los daños generados por los rayos solares en donde su aplicación sobre la piel, evitan que la agresividad de los rayos solares generen algún daño. La falta de información de los daños que puede producir es la causa principal de la mala exposición de la piel al sol por periodos de tiempo muy altos ⁹.

1.1. Problema

1.1.1. Problema general

¿La cremagel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico) poseerá capacidad antioxidante y fotoprotectora *in vitro*?

1.1.2. Problemas específicos

1. ¿Cuáles serán las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico)?
2. ¿Cuál será la capacidad antioxidante *in vitro* de la cremagel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico)?
3. ¿Cuál será la capacidad fotoprotectora *in vitro* de una cremagel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico)?

1.2. Objetivo

1.2.1. Objetivo General

Determinar la actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de la cremagel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico).

1.2.2. Objetivos Específicos

1. Identificar las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico)
2. Evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* de la cremagel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico).
3. Determinar la capacidad fotoprotectora *in vitro* de la cremagel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico) comparado con una formulación comercial.

1.3. Justificación

La incidencia de cáncer a la piel va aumentando cada año el melanoma es el más común de los tipos de cáncer a la piel, conforma solo el 1% de los casos pero causa la gran mayoría de las muertes. Según la Sociedad

Americana contra el Cáncer en los Estados Unidos se ha dado la mayoría de casos solo en este año se han detectado 96,480 nuevos casos ya que los niveles de radiación UV se va incrementando, según el National Weather Service y la Environmental Protection Agency (EPA) la exposición mayor a 11 de la radiación UV que es la considerada extremadamente alta es la principal causa de esta enfermedad. La protección en la piel es indispensable ya que existen diferentes factores que causan severos daños en algunos casos irreparables. Los niveles elevados, inducen estrés oxidativo celular y daño a macromoléculas (lípidos, proteínas y ADN). Aunque la piel posee un sistema antioxidante elaborado para hacer frente al daño oxidativo inducido por UV, se recomienda el uso de activos foto protectores.

En la actualidad existen diversa formas para la protegernos y evitar la oxidación de los radicales libres que existen en la piel que se da por la exposición de los rayos UV, usando indumentaria adecuada como sombreros, camisas, pantalones y gafas para el sol, también el uso de ropa oscura nos brinda más protección de la ropa clara. El uso de productos farmacéuticos como los protectores solares es básico para la protección de los rayos UV.

El *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico) es un árbol que crece en los valles interandinos el cual presenta efectos de protección y antioxidante demostrado en estudios nacionales e internacionales, por tal motivo se justifica el desarrollo del trabajo de investigación con la finalidad de determinar los valores de protección de un extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* frente a un estudio *in vitro* de foto protección y antioxidante con método de DPPH y ABTS, para luego elaborar una crema gel, la cual repercute en la economía de la salud y economía social del país, por ser un tema de impacto en la prevención y tratamiento del cáncer de piel.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

2.1.1. Nacionales

S. Tejada (2018). La presente investigación tiene como objetivo la identificación de los compuestos químicos presentes en el aceite esencial de *P. aduncum*, a su vez la evaluación de la capacidad antioxidante y el efecto fungistático frente a *C. albicans*, las cuales fueron evaluadas por diversas metodologías. Los resultados indicaron la presencia de 35 componentes de los cuales 8 conformaban el 76.53% del cromatograma. En el caso de la actividad antioxidante los resultados de IC50 de la muestra obtenidos con los ensayos DPPH y ABTS fueron de 1087,359 µg/mL y de 147,832 µg/mL respectivamente, los valores de Trolox fueron de 2,0 µg/mL y 2,68 µg/mL. En el caso de la actividad fungistática frente a *C. albicans* los resultados evidenciados fueron que la concentración mínima inhibitoria de la muestra revela efecto fungistático débil comparado con ketoconazol frente a este microorganismo. Como conclusión se resuelve mayor investigación ya que se encontraron compuestos bioactivos prometedores de esta especie por lo tanto se requieren entonces más investigación ¹⁰.

W. Alayo, et al (2018) Los autores realizaron la presente investigación con el propósito de desarrollar una crema con capacidad fotoprotectora a través de una alternativa natural, como la es el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum*, ya que en la actualidad se sabe que los rayos solares en ciertas proporciones son beneficiosos para la salud, pero su exposición prologada y otros factores pueden causar serios daños a la salud, pudiendo provocar envejecimiento prematuro, cáncer a la piel entre otras enfermedades, se obtuvo como resultado un factor de protección solar de 2,29 considerado un nivel bajo según COLIPA. Se recomienda estudios con una mayor concentración del extracto ¹¹.

S. Alva, et al (2014). Los autores realizaron una investigación de la planta *Piper aduncum* procedente de esta familia, el proyecto se basó en determinar el efecto del extracto etanólico de *Piper aduncum* en la oxidación de LDL humana y cuál es la CE50 para estabilización de especies de radicalaris. En los resultados obtenidos se observa que la oxidación de la LDL en el grupo control tiene como resultado 3,556 nmol (MDA)/mL. Y luego de añadir el extracto etanólico fue de 1,3292 nmol/mL, cantidad inferior al del control. Se pudo concluir que las distintas concentraciones es del extracto etanólico de *P. aduncum* poseen una alta actividad antioxidante y también se concluyó que el extracto impide la oxidación de la LDL humana¹².

P. Orbe y G. Tuesta (2013). En el presente trabajo los autores evaluaron la actividad antioxidante y alelopática de dos especies del genero *Piper*, *P. lagenaebaccum* y *P. tenuistylum*, ya que se conoce el gran potencial medicinal de este género y de las plantas que existen en nuestra amazonia las cuales cuentan con innumerables usos terapéuticos, con lo cual se busca una alternativa medica natural y menos invasivos con el fin de mejorar la calidad de vida de las personas y las diversas patologías que presenten evitando efectos secundarios que puedan agravar su situación. En las diversas pruebas que se realizaron a través de los métodos de DPPH y ABTS para antioxidante, se obtuvo como resultado que las hojas de *P. lagenaebaccum* posee una mayor actividad antioxidantes en comparación con las hojas de *P. tenuistylum*. AL evaluar la actividad alelopática de amos ejemplares se obtuvo como resultado que las hojas de *P. tenuistylum* tuvieron un mayor porcentaje de inhibición que las hojas de *P. lagenaebaccum*, Se concluye que dichos ejemplares poseen varios metabolitos los cuales deberían ser investigados a través de su aislamiento para poder conocerse y pueda ser documentado¹³.

M. Rojas y A. Rumay (2010). Los autores evaluaron la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Piper aduncum* a través de métodos espectrofotométricos, este análisis en varias

concentraciones dio como resultado que en 5gr de hojas de *Piper aduncum*, se obtuvo como resultado 0,057 gr de extracto seco, de los cuales un 48,9% son flavonoides, por ello el 0,057% p/v de extracto seco por mL equivale a 0,02792% p/v de flavonoides totales en 100mL. Como conclusión se determinó que las concentraciones de 0,57 y 2,85mg de extracto seco en 10mL poseen actividad antioxidante sobre el radical estable DPPH, se recomienda una mayor investigación debido a la presencia de gran cantidad de flavonoides, los cuales le otorgan una gran actividad antioxidante por lo que pueda tener gran aplicación terapéutica ¹⁴.

2.1.2 Internacionales

A. Montero (2017). La presente investigación se basa en el estudio de la especie *Piper catripense* perteneciente a la familia *Piperaceae* cuya finalidad fue investigar la capacidad antioxidante de dicha especie, para lo cual se realizó un extracto etanólico de la muestra y unas fracciones de hexano, diclorometano y acetato de etilo. La muestra se obtuvo del departamento del Choco municipio Bajo Baudó – Colombia, en las pruebas fitoquímica se identificó la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, taninos, esteroides, cardiotónicos, carotenoides, alcaloides y triterpenos, entre otros compuestos. La fracción de las hojas de acetato de etilo fue la que alcanzo una alta actividad antioxidante con capacidad de neutralización del 50% de radicales libres ¹⁵.

P. Noriega, et al (2016). Los autores realizaron una investigación basada en el estudio del aceite esencial de las hojas de una planta perteneciente a la familia *Piper puvinervulum*, a la cual realizaron estudios para determinar su actividad antioxidante. Se determinó que la actividad antioxidante no era muy significativa con respecto a la actividad antimicrobiana, siendo esta la de mayor interés por los resultados obtenidos, se determinó que posee actividad antifúngica frente a cepas de levaduras como *C. tropicales* y *C. albicans*, las cuales son responsables de diversas enfermedades dando como conclusión la recomendación a elaborar investigaciones sobre

productos tópicos a base de este aceite esencial en contra de este tipo de microorganismos ¹⁶.

Y. Gutiérrez, et al (2016). La presente investigación realizada por los autores se basa en el estudio de la planta *Piper aduncum subsp Trell* perteneciente a la familia *Piperáceae* y está dirigido en su actividad farmacognosia y antioxidante de la misma planta en 2 sitios diferentes de colecta, realizándose uno de ellos en el municipio de Bauta y el otro en la localidad de Ceiba del Agua y teniendo como muestra solo las hojas de dichas plantas, teniendo como resultado ciertas diferencias particulares en el estudio morfológico y los parámetros fisicoquímicos, como en las dimensiones de la hoja, sustancias solubles, cenizas totales, etc. Con respecto a la actividad antioxidante se determinó en el método de FRAPP que el valor encontrado en los extractos supera al valor encontrado en el estándar (vitamina C), mientras que en el método de DPPH los valores encontrados en las muestra son inferiores a los encontrados en el estándar, dando como conclusión que la muestra recolectada en Bauta fue la de mayor actividad antioxidante lo cual indica la presencia de mayor cantidad de fenoles ¹⁷.

Y. Correa, et al (2015). Los autores evaluaron 8 especies de plantas de la familia *Piperaceae* para determinar su actividad antioxidante y antifúngica, *P. eriopodon*, *P. umbellatum*, *P. pesaresanum*, *P. acuminata*, *P. crassinervium*, *P. glanduligerum*, *P. daniel-gonzalezii*, *P. calceolarium*; estas fueron colectadas del parque Regional Natural de Ucumarí en Colombia. Utilizando el método de DPPH y el método de placa perforada, teniendo como resultado de que las plantas con mejor actividad antioxidante fueron *P. eriopodon* y *P. crassinervium* y las que tuvieron mejores resultados antifúngicos fueron las plantas *Piper pesaresanum* y *Piper eriopodon* dando como conclusión que se requiere mayores estudios y que podría ser una buena alternativa medicinal ¹⁸.

A. Mesa, et al (2011). Estudiaron la actividad antioxidante de diferentes plantas de la especie *Piper*, las cuales fueron el *Piper piedecuestanum* y el

Piper subpedale con la finalidad de evaluar el potencial reductor entre estas especies. Previamente se realizaron diversos estudios fotoquímicos donde se identificó distintos metabolitos como taninos, saponinas, terpenos, compuestos fenólicos y flavonoides, siendo estos últimos responsables de la actividad antioxidante. Al concluir con los ensayos se pudo determinar que ambas especies de *Piper* poseen actividad antioxidante, pero en especial en la especie de *Piper* del genero subpedale en la cual se utilizó acetato de etilo ya que presento altos valores en los diversos métodos espectrofotométricos realizados, por lo cual se recomienda un mayor estudio de las características y estructuras de los componentes encontrados en este extracto ¹⁹.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Radiación Solar

Son radiaciones electromagnéticas del sol que se presentan en forma de luz visible, infrarroja (IR) y radiación ultravioleta (RUV), siendo estos los elementos más importantes del espectro electromagnético, pero también encontramos radioondas, microondas, rayos X y radiación gamma ²⁰.

Luz visible: Es el conjunto de radiaciones que los humanos podemos distinguir, tiene diferentes colores que representa un rango de longitud de onda diferente que oscilan entre 400 y 780 nm, que resultaría el 40% de la radiación que proviene del sol ²¹.

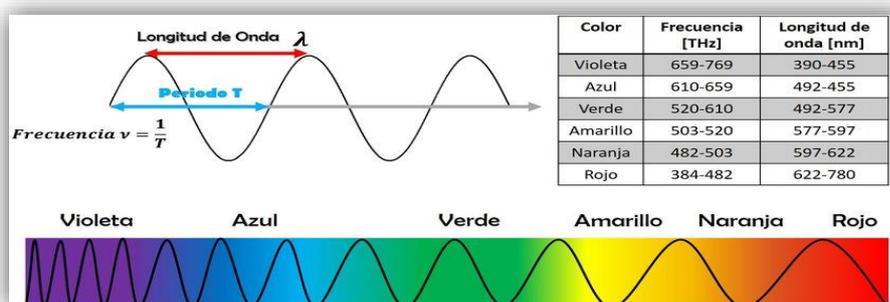


Figura 1. Espectro de luz visible

Radiación infrarroja (IR): constituye el 59% de la emisión solar siendo solo el 40% la que toca la superficie terrestre su longitud de onda oscila entre 760 a 780 nm, hasta 10000 o 15000 nm ²².

La Comisión Internacional de Iluminación o CIE ha establecido tres bandas en el IR:

- ✓ Cercano: de 760 a 1400 nm
- ✓ Medio: de 1400 a 3000 nm
- ✓ Lejano: de 3000 a 10000 nm ²³.



Figura 2: Radiación Infrarroja

2.2.2. Radiación Ultravioleta

Es el más activo de los tres provocando alteraciones con bajo y alto riesgo en la salud. Podemos encontrar tres tipos: UVA, UVB llegan a la tierra y afecta en la piel, y la UVC es bloqueada por la capa de ozono por lo tanto no llega a la tierra ²⁴.

Se consideran que las tres obtienen diferentes longitudes de onda siendo:

- Ultravioleta A (onda larga): 315 a 400 nm
- Ultravioleta B (onda media): 280 a 315 nm
- Ultravioleta C (onda corta): 100 a 280 nm ²⁴.

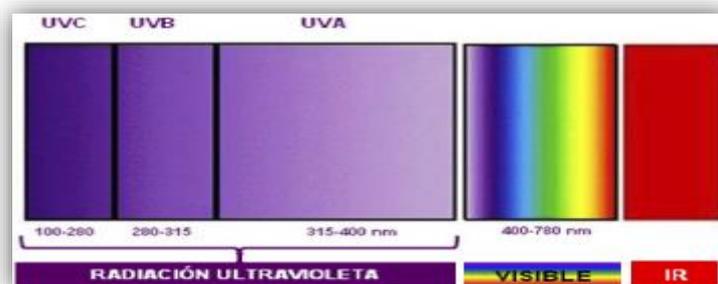


Figura 3: Radiación Ultravioleta

Los rayos UVA y UVB se presenta en pequeñas proporciones en los rayos solares pero presentan un factor de riesgo para producir enfermedades que afectan la salud siendo la principal causa el cáncer a la piel, afectando el ADN de los genes que son los encargadas del crecimiento de las células de la piel. También podemos generar de manera artificial fuentes de producción de rayos ultravioleta en las lámparas y camas bronceadoras ²⁵.

- **Los rayos UVA** se presenta entre 400 y 315 nm (longitud de onda), no generan daños extremos en el ser vivo así sea su paso casi en su totalidad a través de la capa de ozono ²⁶. Es la causante del envejecimiento de las células de la piel dañando su ADN, generando daños a largo plazo produciendo las arrugas ²⁵.
- **Los rayos UVB** se presenta entre 315 y 280 nm (longitud de onda), su capacidad de peligrosidad es alta, pero la gran parte se absorbe en la capa de ozono ²⁶. Dañan directamente al ADN de las células de la piel, causando quemaduras de sol y su sobreexposición puede ser la causa de cáncer a la piel ²⁵.
- **Los rayos UVC** se presenta por debajo de los 280 nm (longitud de onda) tiene más energía que las otras pudiendo ser la que más daño produciría al ser vivo por ser altamente peligrosa ²⁶. No penetran nuestra atmósfera por que se absorbe totalmente en la capa de ozono, evitando daños perjudiciales en la salud no provoca cáncer de piel ²⁵.

Según el *National Weather Services* y la *Environmental Protection Agency (EPA)*, los factores más comunes en donde se está expuesto la potencia de los rayos UV son:

- Hora del día: entre 10 a.m. y 4 p.m.
- Temporada del año: primavera y verano.
- Altitud: en elevaciones más altas.
- Formación nubosa: atraviesan las nubes, así este nublado.

- Reflejo de las superficies: en el agua, la arena, la nieve, el pavimento, o la hierba, genera un efecto rebote provocando más exposición a los rayos UV ²⁵.

Índice de luz ultravioleta

El *National Weather Services* y la *Environmental Protection Agency (EPA)* nos proporcionan una idea de la intensidad de la radiación ultravioleta según el lugar donde se vive dando una escala de 1 al 11+, donde a mayor número mayor riesgo y probabilidad de quemadura solar, ocasionando daño a la piel que podría producir de manera crítica cáncer de piel ²⁵.

Tabla 1: Valores del índice de luz ultravioleta

CATEGORIA DE EXPOSICIÓN	INTERVALOS DE VALORES DEL IUUV
Baja	≤ 2
Moderada	3 a 5
Alta	6 a 7
Muy alta	8 a 10
Extremadamente alta	11 +

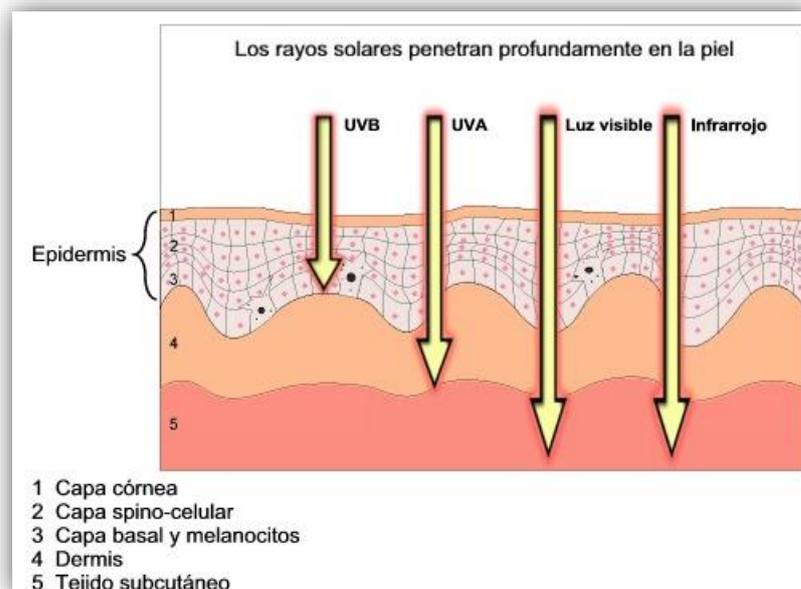


Figura 4: Radiación UV en la piel

2.2.3. La Piel

Nos protege de los daños del medio ambiente es el órgano más grande del ser vivo, alcanzando un área de 1,6 a 1,8 m² en adultos. Está compuesto por tres capas protectoras siendo estas: la epidermis está llena de células que incluyen a los queratinocitos, melanocitos, células Langerhans y células de merkel; la dermis compuesta por el tejido conjuntivo, formado por fibras de colágeno y fibras elásticas, tiene dos capas: capa papilar (externa) y la capa reticular (profunda)²⁷ y el tejido subcutáneo, también llamada fascia subcutánea o hipodermis, es el tejido que se sitúa debajo de la piel. Las células que encontramos son principalmente los fibroblastos que sintetizan colágeno y fibras proteicas de la matriz extracelular, adipocitos que almacenan grasa, y macrófagos células inmunitarias especializadas en la fagocitosis²⁸.

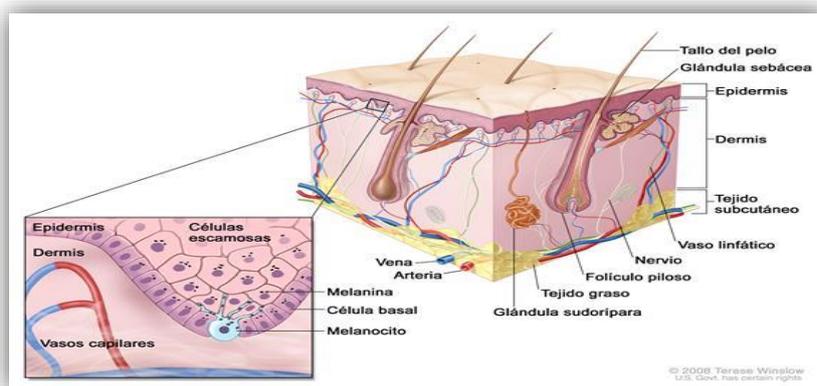


Figura 5: Estructura de la piel

Envejecimiento de la piel

Se produce debido a factores físicos, la exposición a los rayos UVB es el principal, siendo el sol el primer productor de la piel prematuramente envejecida. La alimentación, tomar poca cantidad de agua, y los hábitos tóxicos como fumar y tomar en cantidades excesivas también ayudan al envejecimiento prematuro²⁹.

Los efectos crónicos de los rayos ultravioletas son dosis dependientes y acumulativas, consecuencia de exposiciones demasiado frecuentes y demasiado prolongadas al sol³⁰.

- **El envejecimiento intrínseco**, ocurre como una consecuencia natural de los cambios fisiológicos a lo largo del tiempo. En este caso, la genética individual es responsable principal, entre otros factores ³¹.
- **El envejecimiento extrínseco**, se debe a factores controlables y ocurre en diferentes grados de intensidad, debido a la exposición solar, así como otros factores generales del estilo de vida, como la dieta (falta de, el sueño y la salud general ³².

2.2.4. Antioxidantes

Son compuestos capaces de prevenir y contrarrestar los daños causado en tejido humano por el efecto normal de oxidación fisiológica ³³.

Son capaces de disminuir la acción oxidante que genera los radicales libres, sin perder su estabilidad, evitando que los capten de las células. Los antioxidantes que se encuentran en los alimentos, ayudan a prevenir el desarrollo o la aparición de componente que generan el deterioro debido a la oxidación ³⁴.

Las reacciones de oxidación generan la transferencia de electrones que producen radicales libres para los procesos metabólicos en las células. Estas reacciones generan la transferencia de electrones produciendo radicales libres (RL). Estos afectan las formas de vida, pero existen células que actúan como mecanismos de defensa neutralizando los radicales libres siendo estas antioxidantes que son sustancia que en concentraciones normales interacciona la acción de los radicales libres ³⁵.

Clasificación:

A. Enzimáticos: Son normalmente bio-sintetizados por el organismo.

- **Superóxido dismutasa (SOD):** El radical superóxido (O_2^-) se forma cuando el oxígeno capta un electrón adicional, el SOD cumple como función destruir este radical que actúa como agente potencialmente

activo, es conocido también como peróxido de hidrogeno que es usado como desinfectante y blanqueador ³⁶.

- **El glutatión peroxidasa (GPx):** en los seres vivos se encuentra en la matriz mitocondrial y en el citosol, su función principal es la de proteger al organismo contra la peroxidación lipídica destruyendo la acumulación de metabolitos oxidativos como el peróxido de hidrogeno en los glóbulos rojos que se acumula por la ingesta de algunos fármacos ³⁷.
- **Coenzimas superóxido:** Regulan la llegada de oxígeno a las células y así evitan una oxidación elevada de las células ³⁸.
- **La catalasa:** Tiene la función de poder captar los radicales libres y convertirlos en agua y oxígeno, beneficiando así a las células y al ácido úrico, tiene acción neuroprotectora ayudando a los daños inflamatorios del sistema nervioso ³⁷.

B. No enzimáticos: (se produce a través de la dieta diaria su función es la de reacciones en cadenas, entre los más comunes son la vitamina E y C, β -caroteno ³⁸.

2.2.5. Fotoprotección

Son medidas de prevención que tomamos para evitar daños a la piel causados por los efectos nocivos por la exposición a RUV ³⁹.

Tipos de fotoprotección

A. Fotoprotección natural:

- **Atmósfera y ambiente:** Los rayos ultravioleta que atraviesan la atmosfera y llegan a la tierra se da por diversos factores como latitud, altitud, hora del día, estación del año, nubosidad. La capa de ozono cumple la función de proteger y es la más importante de la

estratosfera, se comporta como un filtro para los rayos con longitud de onda menor a 285 nm, por lo que evita absorber en mayor proporción a los rayos UVB y UVC y en menor proporción a los rayos UVA. El deterioro de la capa de ozono ha generado que estos rayos tengan la mayor probabilidad de incidir con mayor intensidad ^{40, 41, 42}.

- **Cromóforos:** Son moléculas ubicadas en las capas superficiales de la piel se caracteriza por que absorbe al fotón de los rayos UV modificando su estructura. Entre los principales cromóforos tenemos: la melanina, las bases pirimidinas y piridinas del ADN, los aminoácidos aromáticos tirosina y triptófano, los esteroides, los liposomas, el ácido urocánico y la vitamina D. El ácido urocánico es uno de los más importantes y se encuentra en grandes cantidades del estrato corneo, en tanto la melanina absorbe fotones de los rayos UV que se encuentran entre 250 a 1200 nm longitud de onda, convirtiendo la energía absorbida en calor protegiendo así la piel. A mayor grosor de la piel aumenta el nivel de protección ⁴².

B. Fotoprotección externa: La fotoprotección externa está conformada por el uso de prendas de vestir y los protectores solares⁴¹.

- **Indumentaria:** se puede disminuir la exposición de los rayos UV usando accesorios que nos protegen como sombreros, camisetas, pantalones, y gafas de sol ⁴¹.
Adicionalmente, debemos tener en cuenta que al usar ropa de colores oscuros nos ayuda a tener más protección que los colores claros. Asimismo, las vestimentas que tienen tejidos más compactos bloquean de una manera más eficiente el sol, que las que tienen tejidos holgados. Existe en nuestro medio, prendas de vestir especiales que vienen con protección solar, las cuales tienen una marca de factor de protección ultravioleta (UPF) en una escala del 15 al 50+. Mientras más sea la protección, tendremos menor exposición de rayos UV ⁴¹.

Los sombreros de ala ancha, entre 10 y 15 cm ofrecen mayor protección al cuello ⁴³.

Los lentes con filtro UV son importantes para proteger los ojos y las zonas alrededor de ellos, como los párpados. Se ha comprobado que exponer los ojos por largos periodos de tiempo al sol aumenta el riesgo de desarrollar males oculares. Los lentes que contengan el factor de protección UV necesario pueden bloquear del 99% al 100% de los rayos UVA y UVB y deben tener una etiqueta que indique "ANSI" ^{41, 43}.

Fotoprotectores:

Tienen como fin proteger la piel de los daños que puedan generar las exposiciones al sol, estos absorben o evitan la penetración de los fotones de los rayos ultravioleta. ⁴⁴.

Mecanismo de acción

- Absorción: previene su penetración en la epidermis y la dermis, ocurre en el estrato corneo.
- Aumento de la dispersión de los RUV: se genera en el estrato córneo, debido al óxido de zinc (ZnO) y/o dióxido de titanio (TiO₂), en donde sus propiedades físicas hacen que sean elementos resistentes de la RUV.
- Inactivación de radicales libres y ERO: ocurre en las células de la epidermis y la dermis. Se encuentra parcialmente con uso de moléculas antioxidantes necesarias para la piel, en concentraciones elevadas (β -caroteno, vitamina C, α -tocoferol) ⁴⁵.

Factor de protección solar (FPS)

Mide los niveles de protección contra las quemaduras solares, es decir la eficacia de protección frente a los rayos UV ⁴⁶.

El FPS se determina a través del International Sun Protection Factor Test Method (2006), y es la relación entre la dosis mínima de eritema (DME) en piel con protector solar y la DME en piel sin protector solar. La producción

de eritema se observa entre 16 y 24 h posteriores a la exposición de radiación UV ^{47, 48}.

Con tan solo 30 minutos de exposición solar una persona puede desarrollar eritema (enrojecimiento), un fotoprotector de factor 30 es necesario para aumentar el tiempo de exposición solar prolongando así la aparición de eritemas. Se presentan tres niveles: máximo, alto, medio, bajo ^{49, 50}.

Tabla 2: Valores de la eficacia de los productos de protección solar

TIPO DE PIEL	CATEGORIA (PROTECCIÓN)	FPS (ROTULADO)	FPS (MEDIDO)
Piel poco sensible a la quemadura solar	Baja	6	6 - 9.9
		10	10 - 14.9
Piel moderadamente sensible a la quemadura solar	Media	15	15 - 19.9
		20	20 - 24.9
		25	25 - 29.9
Piel muy sensible a la quemadura solar	Alta	30	30 - 49.9
		50	50 - 59.9
Piel extremadamente sensible a la quemadura solar	Muy alta	50 +	60 ≤

2.2.6. “*Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico)”

Descripción

Árbol de hasta 7 m de alto de tallo leñoso, hojas de color verde claras de 12 a 20 cm de largo en forma lanceolada, su inflorescencia son espigas de color blanco a amarillo pálido que contienen muchas flores diminutas hermafroditas, su fruto son drupas con semillas negras ⁵¹.



Figura 6: Estructura botánica de la planta de *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico).

Distribución y hábitat

Es nativa de la mayoría de los países tropicales de Sudamérica, así como Sur de México, el Caribe y gran parte de la América Latina tropical. Habita en climas cálidos, semicálidos y templados entre los 200 y 1130 msnm ⁵¹.

Taxonomía

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Magnollidae

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae

Género: *Piper*

Especie: *Piper elongatum vahl. Var. Salviaefollum (Miq.) Trel.*

Nombre común: Matico ⁵².

Usos medicinales

Su uso medicinal es variado ya que se le atribuye propiedades variadas. En el caso de las hojas si las sometemos a decocción se usan como cicatrizante, en lavados antisépticos sobre heridas y en infusión para vía oral ayuda en la eliminación de cálculos biliares. También se utiliza para aliviar o curar enfermedades respiratorias actuando de manera antiinflamatoria, expectorante y antitusígeno, en cólicos gástricos e intestinales en el caso de acides, indigestión, diarreas agudas o crónicas y tópicamente en infusión de las hojas para hacer gárgaras ⁵³.

Composición química

Hojas: Contiene alcaloides, saponinas, esteroides, taninos flavónicos, flavonoides, aceites esenciales, fenoles, esteroides, diterpenos, triterpenos, azúcares reductores y glicósidos, cumarinas, antracenos, ácidos y vitamina K y compuestos reductores, ácido tartárico ⁵⁴.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

La cremagel elaborada del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico) posee actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro*.

2.3.2. Hipótesis específicas

1. El extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico). Posee clases de metabolitos secundarios
2. El extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico) poseera capacidad antioxidante.
3. El extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico) posee capacidad fotoprotectora.

a. Variable

2.4.1. Tabla operacionalización de variables

- **Independiente:** la crema gel elaborado del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico).
- **Dependiente:** Actividad antioxidante y fotoprotectora.

2.5. Marco conceptual

- **Alcaloides:** son compuesto orgánico de origen vegetal que producen ciertas plantas, derivan de un aminoácido por lo tanto es nitrogenado. Estos compuestos generan efectos fisiológicos de distintas clases, actúa sobre el sistema nervioso central entre los más importantes tenemos la base de drogas como la cocaína y morfina.
- **Antiinflamatorio:** es un proceso que genera un medicamento o el cual es usado para prevenir o disminuir un proceso inflamatorio.

- **Células de Langerhans:** nacen en la médula ósea y se dirigen a la epidermis en donde intervienen en la regulación de las respuestas inmunes de la piel. Son células inmunes que presentan antígenos.
- **Células de Merkel:** se encuentran en lo más profundo de la epidermis donde están unidos a los queratinocitos por desmosomas. Estas células hacen contacto con la parte final de una neurona sensitiva e intervienen en la sensación de tacto.
- **Colágeno:** se encuentra en la piel, el tejido conjuntivo, óseo y cartilaginoso, de todo ser vivo dando elasticidad y resistencia en piel y articulaciones. Es una molécula proteínica que forma las fibras de colágeno.
- **Compuestos bioactivos:** son componentes que se encuentran en los alimentos, no son nutrientes pero potencia la acción de algunos nutrientes, interviniendo en las actividades fisiológicas y celulares dando así beneficios para la salud. Actúa como sistema de defensa.
- **Cremagel:** es una emulsión de crema en aceite, muy emoliente (hidratante que se utiliza para aportar agua a la piel y recobrar la humedad) pero no grasa.
- **Cumarinas:** pertenecen a la familia de las benzopironas y su característica principal es la de tener una estructura cristalina e incolora. Actúa como anticoagulante natural.
- **Dermis:** es la capa de la piel situada debajo de la epidermis, tiene dos capas la delgada llamada dermis papilar y la gruesa llamada dermis reticular. Es 20 veces más gruesa que la epidermis.
- **Epidermis:** es la primera capa de la piel, carece de capilares sanguíneos por lo tanto depende de la dermis para su irrigación

sanguínea, nos protege de los daños que produce el medio ambiente y está formada por células epiteliales de tipo queratinocitos.

- **Fagocitosis:** es cuando un glóbulo blanco destruye sustancia extrañas, eliminándolas y evitando infecciones en el sistema inmune.
- **Fibroblastos:** es un tipo de célula residente del tejido conectivo propiamente dicho, ya que nace y muere ahí. Sintetiza fibras y mantiene la matriz extracelular del tejido de muchos animales.
- **Flavonoides:** son metabolitos secundarios que protegen a las células de daños producidos por agentes oxidantes es el responsable de la pigmentación de algunos vegetales.
- **Fotón:** es una partícula mínima de energía luminosa que se encuentra en todo tipo de radiación.
- **Glicoproteína:** está formada por proteínas que se encuentran unidas por un enlace glucosídico a uno o varios glúcidos, simples o compuestos.
- **IC 50:** (concentración inhibitoria media máxima): es una medida cuantitativa que indica que cantidad de sustancias inhibidora se necesita para inhibir un proceso biológico o componente biológico dado en un 50%. Los valores se expresan típicamente como concentración molar.
- **In Vitro:** son técnicas que se realiza fuera del organismo vivo, se realiza en ambientes controlados utilizando diferentes materiales entre ellos los tubos de ensayo.

- **Macrófagos:** resulta cuando un monocito atraviesa el epitelio de los capilares y entra en el tejido conjuntivo, son células del sistema inmunitario.
- **Melanocitos:** es el encargado de la producción de la melanina que es de coloración marrón-negro dándole color a la piel además de protegerla de los rayos ultravioletas. Representa el 8% de las células epidérmicas.
- **Radicales libres:** son moléculas altamente reactivas en concentraciones elevadas generando un desorden en las membranas celulares siendo letales para la célula, pero en cantidades adecuadas trae beneficios en la salud.
- **Radioondas:** tiene la frecuencia más baja y la longitud de onda más larga de todas las energías de radiación electromagnética.
- **Radiación gamma:** radiación electromagnética constituida por fotones, es generada por elementos radioactivos y acompañan en la transmisión de las partículas alfa y beta.
- **Rayos X:** radiación electromagnética, que atraviesa cuerpos opacos. Es invisible para el ojo humano.
- **Taninos:** son metabolitos secundarios presentes en las plantas, son de color amarillo y marrón con sabor amargo.
- **Trolox:** Es un análogo hidrosoluble del alfa-tocoferol (soluble en agua), es utilizado como estándar en diversos ensayos de antioxidantes expresándose en micromoles Equivalentes Trolox por una unidad de peso o de volumen de una muestra analizada
- **Ubiquinona:** actúa como antioxidante contra los radicales libres, producen energía con ayuda de las mitocondrias.

CAPÍTULO III: MÉTODO

3.1. Tipo de estudio

- **Transversal:** Se realiza en un corto tiempo. Algo instantáneo ante un hecho.
- **Prospectivo:** Se analiza los datos obtenidos en el estudio en un determinado tiempo.
- **Cuantitativo:** Se realiza mediciones en diferentes concentraciones para luego comparar los datos recolectados.

3.2. Diseño a utilizar

- **Experimental:** Permite tener un control total de todas las variables, se caracteriza por la intervención deliberada del investigador para provocar cambios de la variable dependiente. Siendo de forma aleatoria.
- **Analítico:** Se realiza para evaluar asociaciones entre exposiciones y resultados, en donde su objetivo es identificar posibles causas del evento o resultados de interés.

3.3. Población

Especie vegetal: 10 plantas en un área de 10 m² de *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico), perteneciente al distrito Pichirua de la provincia de Abancay departamento de Apurímac Perú.

3.4. Muestra Vegetal

2kg de Hojas de *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (matico) proveniente del distrito Pichirua de la provincia de Abancay departamento de Apurímac Perú.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Materiales

- Materiales de laboratorio de vidrio varios
- Papel filtro
- Micro pipeta 1mL
- Frascos ámbar de 1L y 2L
- Frasco ámbar de 50mL
- Cronómetro
- Espátulas
- Cubetas de cuarzo para espectrofotómetro
- Malla 80

Equipos

- pH metro digital
- Balanza electrónica 1mg – 200g (Digital precisión)
- Balanza METLER TOLEDO (precisión: 0.1g)
- Espectrofotómetro UV – visible (Thermo Scientific ORION AQUAMATE)
- Molino THOMAS
- Cámara digital

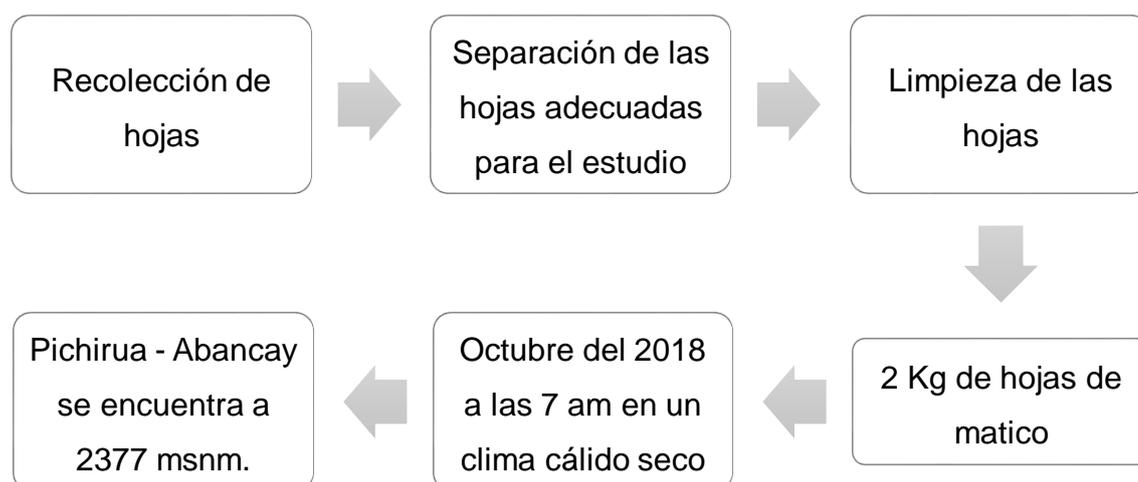
Reactivos

- Etanol absoluto (Merck)
- Metanol (Merck)
- Agua destilada
- 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) (Sigma)
- Trolox (Sigma)
- ABTS (SIGMA)
- Persulfato de sodio

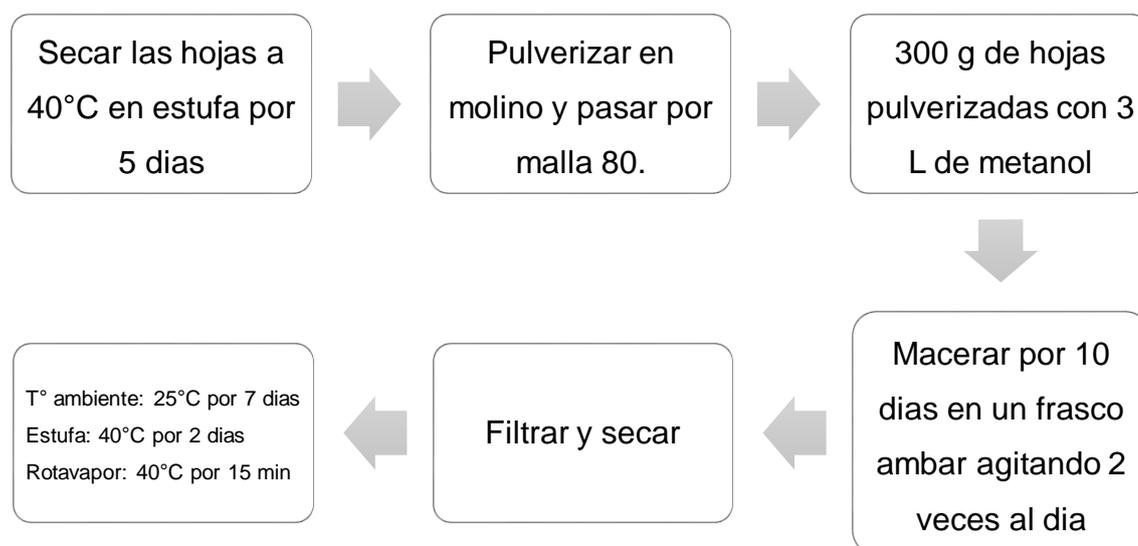
3.6. Procesamiento de datos

3.6.1. Material vegetal

Obtención del material vegetal



Estabilización del material vegetal y preparación del extracto metanólico



3.6.2. Tamizaje fitoquímico del extracto metanólico

Se realizó empleando reactivos de coloración y precipitación

Tabla 3: Tamizaje fitoquímico

Metabolito secundario	Método	Procedimiento	Reacción positiva
Alcaloide	Dragendorff (Ioduro de bismuto y potasio)	Muestra diluida en etanol + 2 gotas de reactivo.	Coloración rojo o naranja
Alcaloide	Mayer (Ioduro de mercurio y potasio)	Muestra diluida en etanol + 2 gotas de reactivo.	Coloración blanco o crema
Alcaloide	Wagner (Ioduro de potasio)	Muestra diluida en etanol + 2 gotas de reactivo.	Coloración marrón
Compuesto fenólicos	FeCl ₃	Muestra diluida en etanol + 2 gotas de FeCl ₃ .	Coloración azul o verde petróleo
Cumarinas	UV	Muestra diluida en agua destilada se humedece con papel filtro humedecido con NaOH al 10%.	Fluorescencia amarilla verdosa
Flavonoides	Reacción de Shinoda	Muestra diluida en etanol + trozos de cinta de magnesio y gotas de HCl	Coloración rojiza magenta
Quinonas	Bornträger	Muestra diluida en etanol + NaOH 5%	Rojo en fase acuosa.
Taninos	Gelatina- cloruro de sodio	Muestra diluida en etanol + 1 gota de la siguiente solución: 1 g de gelatina/100 mL de H ₂ O + 10 g de NaCl.	Precipitado
Saponinas	Espuma	Muestra diluida en agua, agitar por 30 seg.	Espuma persistente por 30 min.

3.6.3. Cromatografía en capa fina

Solventes

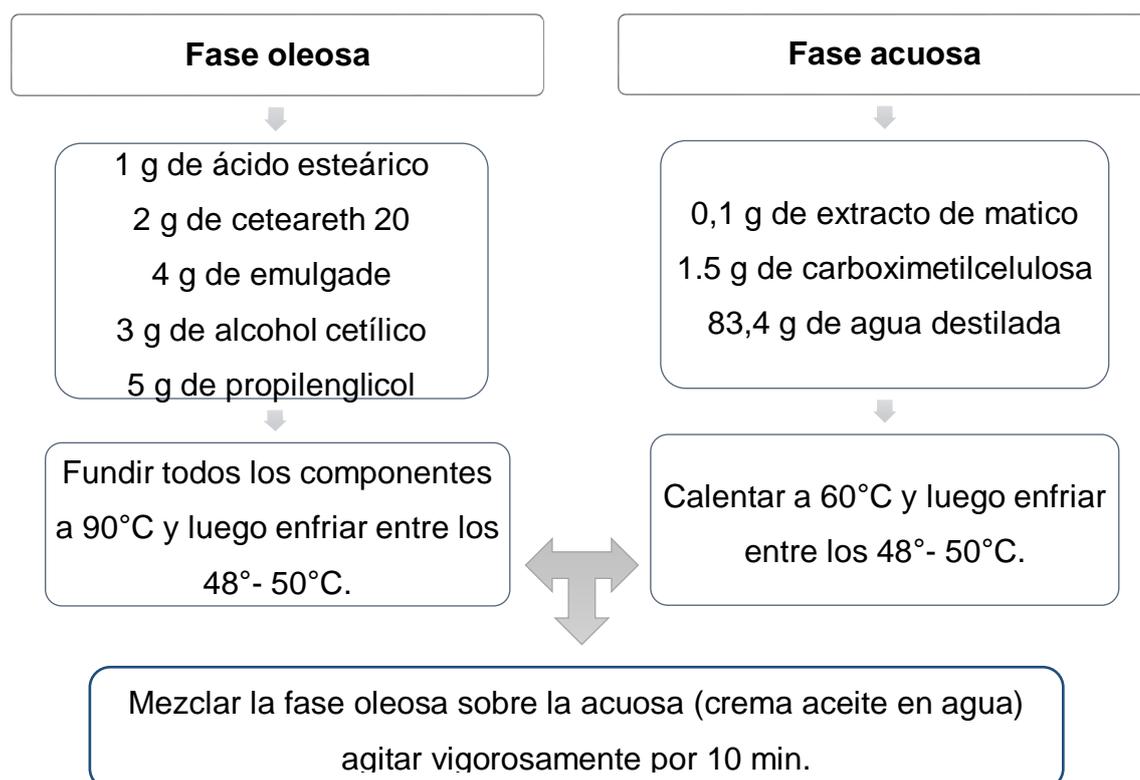
- **Butanol:** líquido incoloro e inflamable que en alta concentración tiene un olor desagradable lo que normalmente es dulce. Es miscible con muchos disolventes orgánicos, como alcoholes y cetonas entre otros ⁵⁶.
- **Ácido acético:** El ácido acético es un líquido incoloro con un olor característico (vinagre). Miscible en agua ⁵⁷.

Tabla 4: Solución para cromatografía

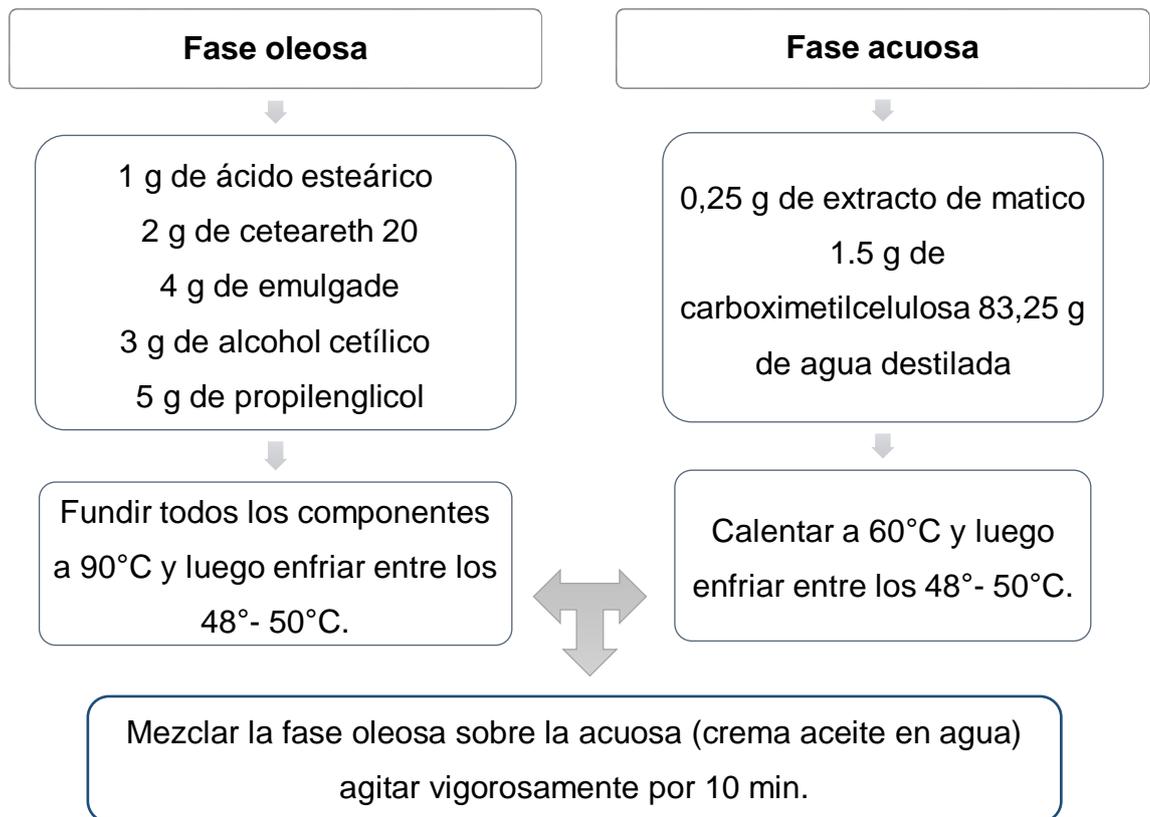
Preparación de la solución para cromatografía (cantidad para 10 mL de solución)		
Butanol	Ácido acético	Agua destilada
4 mL	5 mL	1 mL

3.6.4. Elaboración de la crema gel

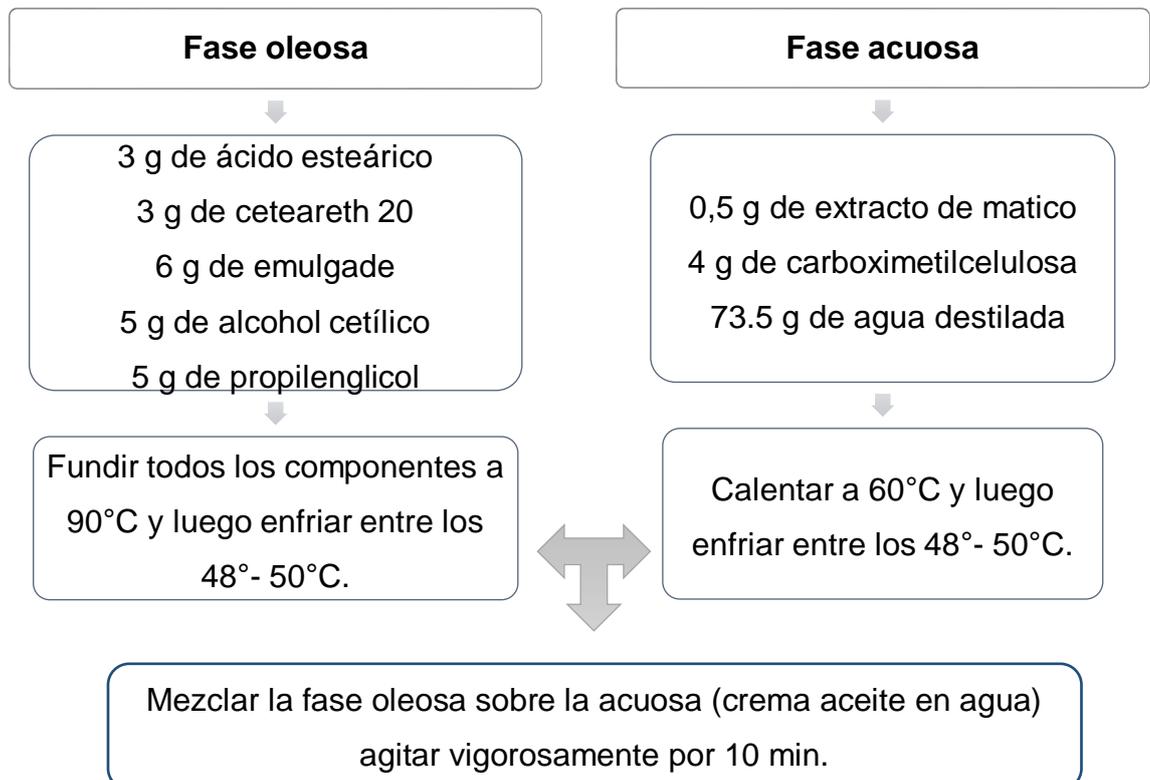
- **Crema gel del extracto metanólico al 0,1%**



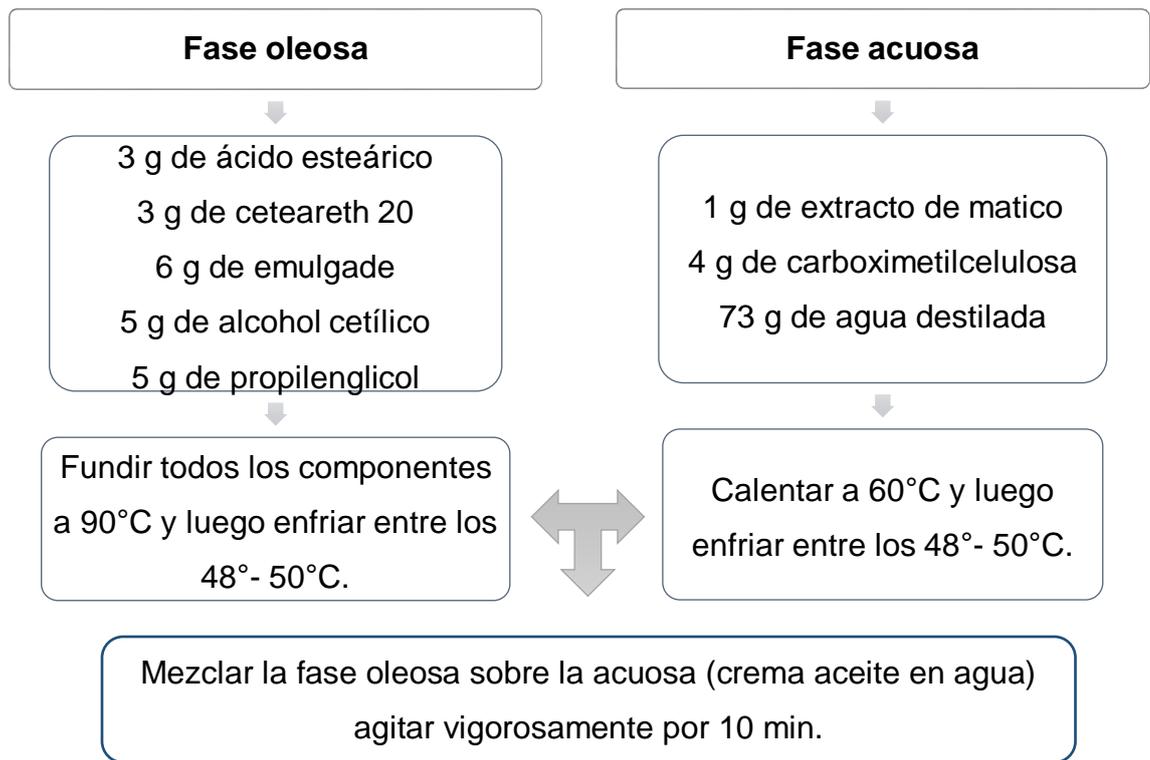
- **Crema gel del extracto metanólico al 0,25%**



- **Crema gel del extracto metanólico al 0,5%**



- **Crema gel del extracto metanólico al 1%**



3.6.5. Determinación *in vitro* de la actividad antioxidante método de DPPH

Fundamento del método: Este radical 2,2-difenil-1-picrilhidracido (DPPH), es un radical libre (electrón desapareado) que se puede disolver en un medio orgánico. La reducción del DPPH se controla mediante la disminución en la absorbancia, este se absorbe a una longitud de onda 515 nm y cuando se reduce por presencia de un antioxidante este desaparece, la coloración del DPPH es violeta y el cambio a amarillo pálido, es síntoma de presencia de antioxidante. Los resultados se expresan en micromoles Equivalentes Trolox que es utilizado como reactivo de calibración ^{58,59}.

Procedimiento: Se prepararon las siguientes soluciones:

- **Solución del patrón de referencia:** solución metanólica de Trolox 1000 μ M (solución madre). De la solución madre del estándar de Trolox se

hicieron diluciones en metanol para obtener soluciones de 100, 200, 400, 800 y 1000 uM, con las que se construyó la curva de calibración.

- **Solución DPPH:** solución metanólica de DPPH 0.1 mM
- **Blanco:** 0,7 mL del solvente (metanol) más 1,4 mL de DPPH y 1,4 mL de metanol más 0,7 mL de agua destilada para ajustar el espectrofotómetro a cero.
- **Blanco de la muestra:** 1,4 mL de metanol más 0,7 mL muestra.
- **Preparación de las muestras con la solución DPPH:** Se evaluó la actividad antioxidante de la siguiente manera: en 3 tubos de ensayo colocar 0,7 mL de muestra (extractos en concentraciones de 100 ug/mL, 500 ug/mL y 1000 ug/mL y crema gel (0,1%; 0,25%; 0,5%; 1%), adicionar 1,4 mL de una solución de DPPH 0,1 mM, homogenizar en shaker y reposar por 30 minutos a temperatura de ambiente en un lugar oscuro, realizar la lectura de la absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro UV-Visible. Todos los análisis se realizaron por triplicado (n= 3). Los cálculos fueron expresados en % DPPH remanente también llamado % de inhibición y en micromoles Equivalentes Trolox.

El % DPPH remanente o % de inhibición fue calculado según la ecuación:

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

Donde:

- A_i : absorbancia inicial del DPPH
- A_f : absorbancia final DPPH después de 30 min.

El cálculo para expresar la actividad antioxidante en micromoles Equivalentes Trolox fue el siguiente:

- 1) Se calcula el porcentaje de inhibición del radical DPPH (IC50) con la ecuación anteriormente descrita.

- 2) Se calcula la actividad antioxidante micromoles Equivalente Trolox:
Se despeja X de la ecuación de la recta del estándar de Trolox ($Y = aX + b$), se sustituye el valor de porcentaje de inhibición obtenido y se resuelve la ecuación.
- 1) Al valor obtenido se multiplica el factor de dilución correspondiente para obtener la actividad antioxidante equivalente a Trolox real. En el presente estudio corresponde a: $4 / 0.1$ (donde 4 es el volumen final de reacción en mL y 0,1 el volumen en mL de la muestra tomada). Los resultados se expresan en mol de Trolox/100 mL de la formulación al 10%.
- 3) Para expresar los resultados por gramo de producto, al valor obtenido anteriormente se multiplica por el equivalente en gramos de muestra contenido en 100 mL de formulación. Los resultados se expresan en micromoles Equivalente Trolox ⁵⁸.

3.6.6. Determinación *in vitro* de la actividad antioxidante método ABTS+

Fundamento del método: Fundamento del método: este método está basado en activación de la metilmioglobina con peróxido de hidrogeno en presencia de ABTS+ (Acido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico), para producir un radical catión, frente a un agente oxidante. Este reactivo tiene una coloración verde-azulado que va disminuyendo al reaccionar directamente con el radical ABTS+ en presencia de un agente antioxidante. Se puede realizar la prueba con muestra hidrosoluble o liposoluble, los resultados se expresan en micromoles Equivalentes Trolox que es utilizado como reactivo de calibración. Su lectura se puede visualizar en tres longitudes de onda de 645 nm, 754 nm y 815nm ⁶⁰.

Procedimiento

Se prepararon las siguientes soluciones:

- **Solución del patrón de referencia:** solución metanólica de Trolox 1000 uM (solución madre). De la solución madre del estándar de Trolox se

hicieron diluciones en metanol para obtener soluciones de 2,5; 5; 7,5; 10; 12 y 15 uM, con las que se construyó la curva de calibración.

- **Solución ABTS+ 7mM:** La solución de ABTS tiene 2 días de estabilidad, se utiliza ácido 2,2'-Azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (3.8 mg/mL) con persulfato de sodio (37,5 mg/mL) a temperatura ambiente (25°C), para el análisis de la actividad antioxidante. Para lograr estabilidad a la preparación se colocó en un frasco de color ámbar y se mantuvo en un lugar oscuro por 16 horas a temperatura ambiente. Se e tomo 0,5 mL de la solución y se llevó hasta un volumen de 50 mL en un aforado con etanol, se realizó la lectura en el UV visible a una longitud de onda de 754 nm, si es necesario ajustar hasta obtener una absorbancia de $0,70 \pm 0,02$.
- **Blanco:** 40 uL del solvente (etanol) más 1960 uL de ABTS y etanol para ajustar el espectrofotómetro a cero.
- **Blanco de la muestra:** 1960 uL de etanol más 40 uL muestra.
- **Preparación de las muestras con la solución ABTS+:** colocar en 3 tubos de ensayo 40 uL de muestra (extractos en concentraciones de 100 ug/mL, 500 ug/mL y 1000 ug/mL y crema gel al 0,1%; 0,25%; 0,5%; 1%), adicionar 1960 uL de una solución de ABTS. Finalmente se homogeniza por 1 minuto y se mide la absorbancia a los 7 minutos de la reacción, a una longitud de onda de 754 nm. Una vez obtenido los resultados se obtiene el % de inhibición para conocer la capacidad antioxidante de la muestra:

$$\% \text{ inhibición de ABTS} = (1 - (A2 - A3) / A1) \times 100$$

Donde:

- A1 = Absorbancia del ABTS+ en etanol
- A2 = Absorbancia de la muestra a los 7 minutos
- A3 = Absorbancia del blanco de muestra

El cálculo para expresar la actividad antioxidante en equivalentes Trolox fue el siguiente:

- 2) Se calcula el porcentaje de inhibición del radical ABTS+ (IC50) con la ecuación anteriormente descrita.
- 3) Se calcula la actividad antioxidante equivalente a Trolox. Se despeja X de la ecuación de la recta del estándar de Trolox ($Y = a X + b$), se sustituye el valor de porcentaje de inhibición obtenido y se resuelve la ecuación.
- 4) Al valor obtenido se multiplica el factor de dilución correspondiente para obtener la actividad antioxidante equivalente a Trolox real. En el presente estudio corresponde a: $4 / 0.1$ (donde 4 es el volumen final de reacción en mL y 0,1 el volumen en mL de la muestra tomada). Los resultados se expresan en mol de Trolox/100 mL de la formulación al 10%.
- 5) Para expresar los resultados por gramo de producto, al valor obtenido anteriormente se multiplica por el equivalente en gramos de muestra contenido en 100 mL de formulación. Los resultados se expresan en micromoles Equivalente Trolox de formulación ⁶⁰.

3.6.7. Determinación *in vitro* del factor de protección solar (FPS) de las formulaciones

Se siguió la metodología *in vitro* descrita por Mansur *et al.* Donde nos indica: diluir en etanol hasta una concentración de 0,2 mg/mL. A través de la fórmula matemática desarrollada según el método, se relacionan los valores de absorbancia obtenidos de las muestras con el FPS de la formulación. El presente estudio se evalúa en un rango de 290 a 320 nm, solo para el rango del UVB debido a que el método de Mansur abarca solamente el rango 200 a 400 nm ⁶¹.

Para obtener las muestras diluidas de las formulaciones, se pesó 1 g de las formulaciones crema gel al 0,1%; 0,25%; 0,5%; 1% y se colocaron en una fiola de 100 mL, agregar 50 mL de etanol, se agita por 5 minutos, aforar con etanol homogeniza y filtrar con ayuda de una jeringa y filtros de 40 micras. Tomar alícuota de 5 mL del filtrado se transfiere a una fiola de 50

mL aforar con etanol. Tomar una alícuota de 5 mL de la última dilución se transfiere a una fiola aforado de 25 mL y se lleva a volumen con etanol absoluto. La lectura espectrofotométrica se da en rangos de 290 a 320 nm, con intervalos de 5 nm. Los análisis fueron calculados de acuerdo con la ecuación desarrollada por Mansur *et al*⁶¹.

$$FPS = FC \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Donde:

- FPS= Factor de Protección Solar
- FC= 10 (factor de corrección)
- EE (λ)= efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda (λ) (Tabla 1)
- I (λ) = intensidad del sol en la longitud de onda (λ) (Tabla 1)
- Abs (λ)= absorbancia de la solución en la longitud de onda (λ)⁶².

Tabla 5: Relación del efecto eritemogénico (EE) versus la intensidad de la radiación (I) en cada longitud de onda.

Longitud de onda (nm)	EE (λ) x I (λ)
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180
Total	1.0000

CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Tamizaje fitoquímico

Se presenta en la siguiente tabla los resultados realizados a los tres métodos de secado del extracto:

Tabla 6: Resultados del tamizaje fitoquímico

Metabolito secundario	Método	TIPOS DE SECADO		
		Rotavapor	Ambiente	Estufa
Alcaloides	Dragendorff (Ioduro de bismuto y potasio)	+	+	+
Alcaloides	Mayer (Ioduro de mercurio y potasio)	+	+	+
Alcaloides	Wagner (Ioduro de potasio)	+	+	+
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	++	++	++
Cumarina	UV	++	++	++
Flavonoides	Reacción de Shinoda	+++	+++	+++
Quinonas	Bornträger	++	++	++
Taninos	Gelatina- cloruro de sodio	++	++	++
Saponinas	Espuma	-	-	-

Leyenda: nulo (-), poco (+), moderado (++), abundante (+++)

4.1.2. Cromatografía en capa fina

Se pudo evidenciar a través de los colores que presento el cromatofólio la posible presencia de flavona y flavonoles (amarillo verdoso).

4.1.3. Actividad antioxidante *in vitro* por método DPPH

Patrón de referencia

Tabla 7: Resultados del patrón de referencia para DPPH: Trolox

ECUACION RECTA DE TROLOX	100	200	400	800	1000
Absorbancias	0,767	0,679	0,524	0,162	0,012
Abs. Inicial DPPH:	0,772	0,684	0,523	0,161	0,015
0,8667	0,774	0,683	0,527	0,165	0,016
Promedio de absorbancias	0,771	0,682	0,525	0,163	0,014
Abs. Inicial DPPH – promedio Abs. TROLOX	0,096	0,185	0,342	0,704	0,852
% Inhibición	11,038	21,308	39,462	81,231	98,346

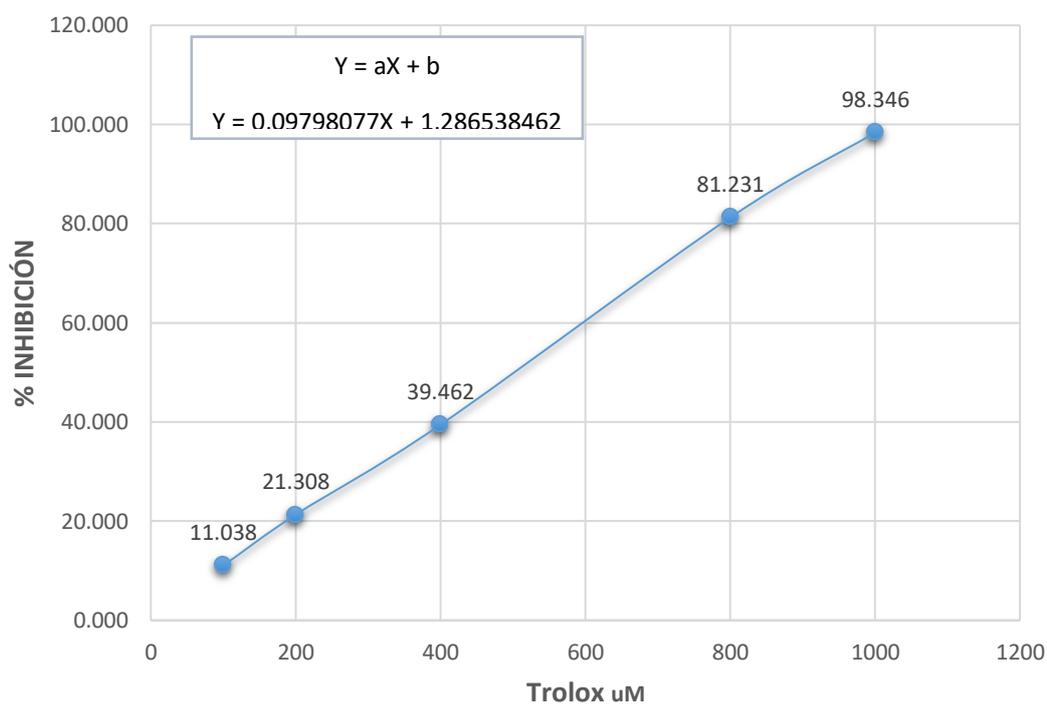


Figura 7: Recta de Trolox para DPPH

Extracto metanólico secado por ambiente

Según el método de DPPH, se obtuvieron: 654,975 en 1000 ug/mL, 408,852 en 500 ug/mL y 99,529 en 100 ug/mL, del extracto secado en el ambiente siendo estos valores expresados en uM Equivalente Trolox.

Tabla 8: Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en el ambiente – DPPH.

AMBIENTE	1000 ug/mL	500 ug/mL	100 ug/mL
Absorbancias	0,302	0,511	0,786
(Abs. Inicial DPPH: 0.8667)	0,296	0,506	0,766
	0,300	0,508	0,761
Promedio de absorbancias	0,299	0,508	0,771
Abs. DPPH - Abs. Muestra	0,567	0,358	0,096
% Inhibición	65,462	41,346	11,038
uM Equivalente Trolox	654,975	408,852	99,529

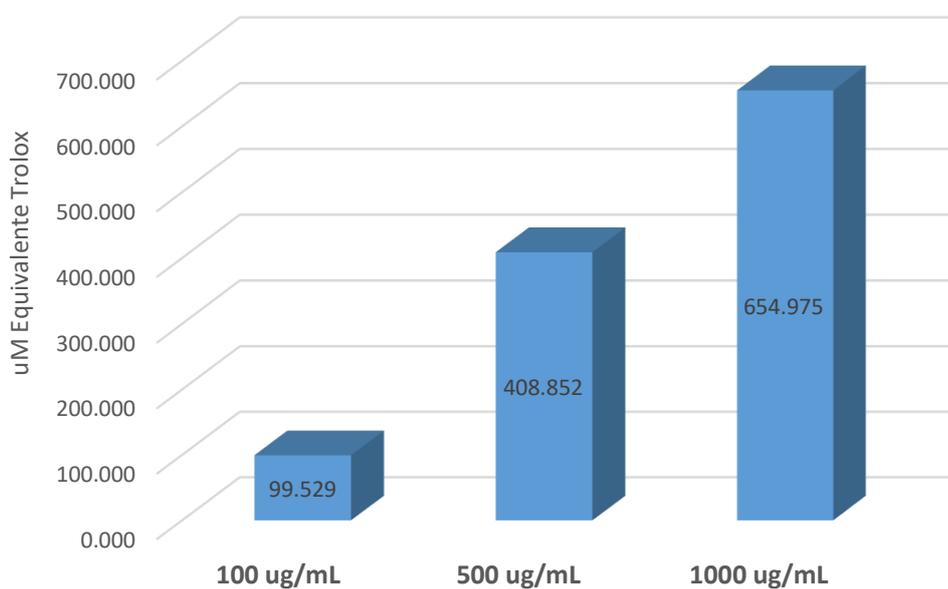


Figura 8: Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en el ambiente - DPPH

Extracto metanólico secado por estufa

Según el método de DPPH, se obtuvieron: 654,975 en 1000 ug/mL, 10,815 en 500 ug/mL y 112,090 en 100 ug/mL, del extracto secado en el ambiente siendo estos valores expresados en uM Equivalente Trolox.

Tabla 9: Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en la estufa - DPPH.

ESTUFA	1000 ug/mL	500 ug/mL	100 ug/mL
Absorbancias	0,345	0,506	0,782
(Abs. Inicial DPPH: 0.8667)	0,279	0,509	0,745
	0,274	0,505	0,754
Promedio de absorbancias	0,299	0,507	0,760
Abs. Blanco DPPH - Abs Muestra (promedio)	0,567	0,360	0,106
% Inhibición	65,462	41,538	12,269
uM Equivalente Trolox	654,975	410,815	112,090

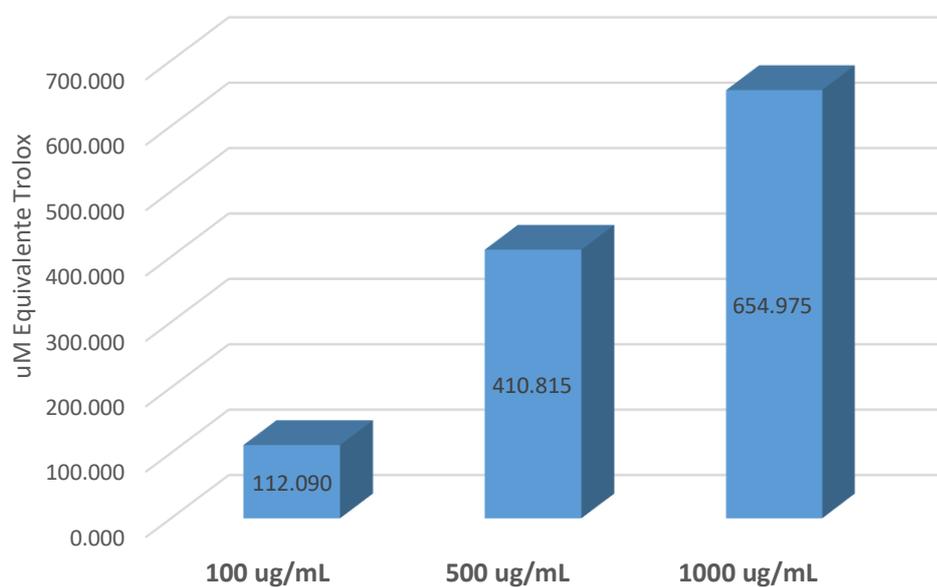


Figura 9: Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en la estufa - DPPH

Extracto metanólico secado por rotavapor

Según el método de DPPH, se obtuvieron: 724,848 en 1000 ug/mL, 410,029 en 500 ug/mL y 134,858 en 100 ug/mL, del extracto secado en el ambiente siendo estos valores expresados en uM Equivalente Trolox.

Tabla 10: Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en el rotavapor - DPPH.

ROTAVAPOR	1000 ug/mL	500 ug/mL	100 ug/mL
Absorbancias	0,252	0,526	0,774
(Abs. Inicial DPPH: 0.8667)	0,230	0,494	0,719
	0,238	0,502	0,730
Promedio de absorbancias	0,240	0,507	0,741
Abs. Blanco DPPH - Abs Muestra (promedio)	0,627	0,359	0,126
% Inhibición	72,308	41,462	14,500
uM Equivalente Trolox	724,848	410,029	134,858

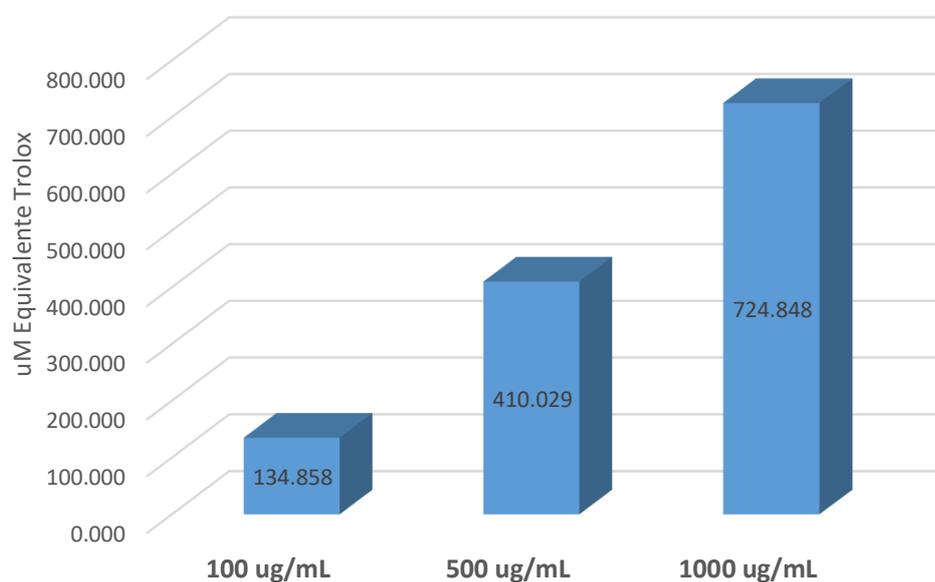


Figura 10: Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en rotavapor- DPPH

Cremagel elaborado por el extracto metanólico secado por rotavapor

Según el método de DPPH, se obtuvieron: 14.661 crema estándar, 163.919 crema 1%, 90.074 crema 0.5%, 51.526 crema 0.25%, 27.309 crema 0.10%, del extracto secado en el ambiente siendo estos valores expresados en uM Equivalente Trolox.

Tabla 11: Resultados del análisis de la cremagel del extracto metanólico del matico secado en el rotavapor - DPPH.

	STD	1%	0.50%	0.25%	0.10%
Absorbancias	2.035	1,726	1,938	1,969	2,010
(Abs. Inicial DPPH: 2.0931)	2.037	1,734	1,825	1,952	2,010
Promedio de absorbancias	2.036	1,730	1,882	1,961	2,010
Abs. Blanco DPPH - Abs Muestra (promedio)	0.058	0,363	0,212	0,133	0,083
% Inhibición	2.723	17,347	10,109	6,335	3,970
uM Equivalente Trolox	14.661	163,919	90,047	51,526	27,309

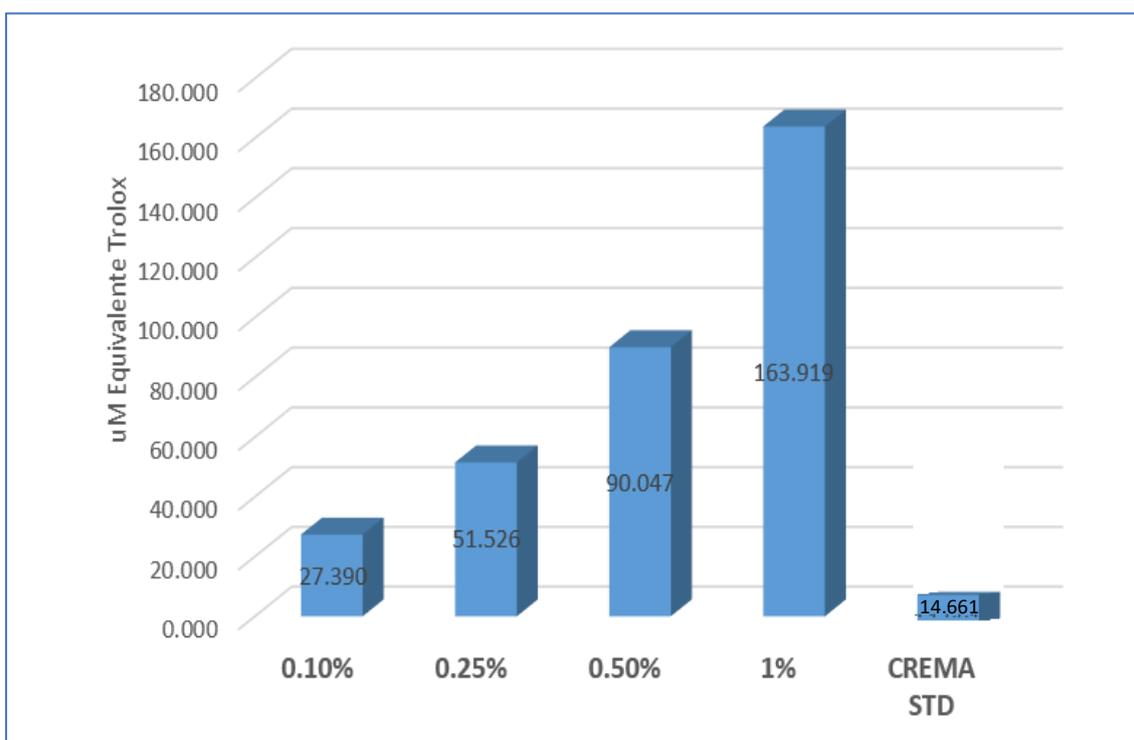


Figura 11: Actividad antioxidante de la cremagel del extracto metanólico del matico secado en rotavapor - DPPH

4.1.1. Actividad antioxidante *in vitro* por método ABTS

Patrón de referencia

Tabla 12: Resultados del patrón de referencia para ABTS: Trolox

ECUACION RECTA	2.5	5.0	7.5	10.0	12.0	15.0
Absorbancias	0,784	0,682	0,547	0,473	0,384	0,208
(Abs. Inicial ABTS: 0.64033)	0,773	0,688	0,551	0,462	0,387	0,211
	0,753	0,673	0,549	0,476	0,395	0,238
Promedio de absorbancias	0,770	0,681	0,549	0,470	0,389	0,219
Abs ABTS en etanol	0,640	0,640	0,640	0,640	0,640	0,640
Absorbancia blanco muestra	0,006	0,014	0,017	0,022	0,048	0,054
% Inhibición	-19,313	-4,164	16,918	29,984	46,799	74,232

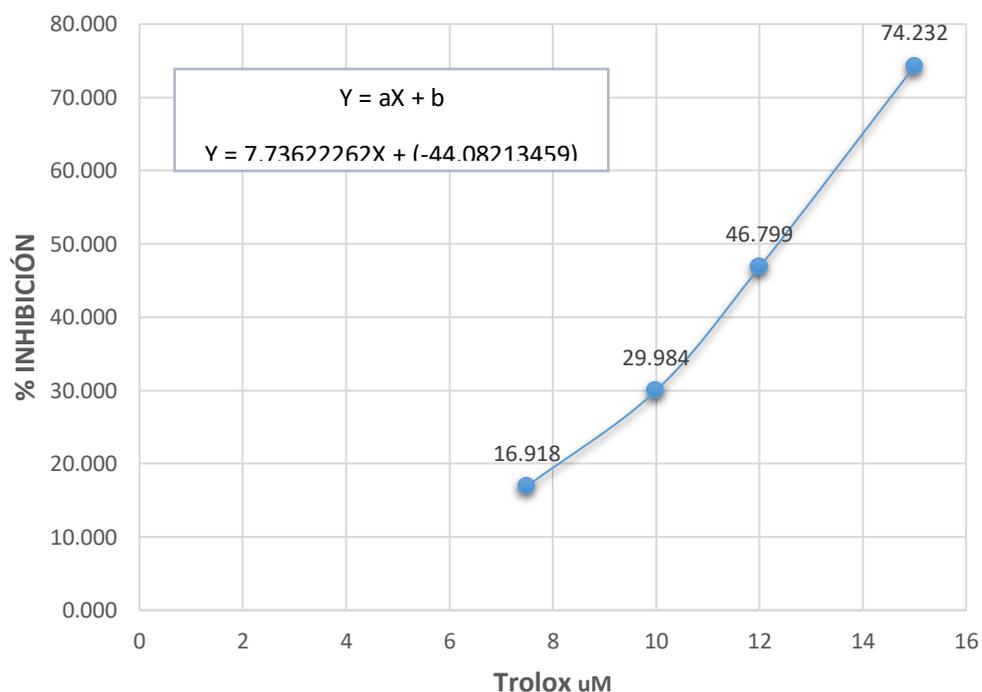


Figura 12: Recta de Trolox para ABTS

Extracto metanólico secado por ambiente

Según el método de ABTS, se obtuvieron: 12,437 en 1000 ug/mL, 11,054 en 500 ug/mL y 9,318 en 100 ug/mL, del extracto secado en el ambiente siendo estos valores expresados en uM Equivalente Trolox.

Tabla 13: Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en el ambiente - ABTS.

AMBIENTE	1000 ug/mL	500 ug/mL	100 ug/mL
Absorbancias	0,302	0,38	0,452
(Abs. Inicial ABTS: 0,6403)	0,311	0,37	0,46
			0,471
Promedio de absorbancias	0,307	0,375	0,461
Abs. Blanco ABTS - Abs Muestra (promedio)	0,334	0,265	0,179
% Inhibición	52,134	41,437	28,006
uM Equivalente Trolox	12,437	11,054	9,318

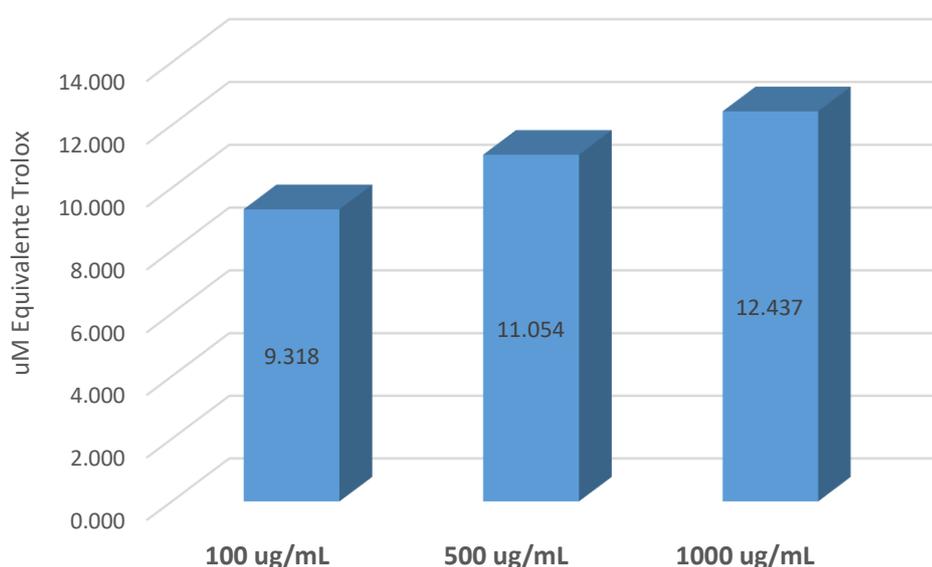


Figura 13: Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en ambiente - ABTS.

Extracto metanólico secado por estufa

Según el método de ABTS, se obtuvieron: 11,943 en 1000 ug/mL, 10,866 en 500 ug/mL y 9,372 en 100 ug/mL, del extracto secado en el ambiente siendo estos valores expresados en uM Equivalente Trolox.

Tabla 14: Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en estufa - ABTS.

ESTUFA	1000 ug/mL	500 ug/mL	100 ug/mL
Absorbancias	0,337	0,393	0,458
(Abs. Inicial ABTS: 0.6403	0,325	0,383	0,461
		0,377	0,456
Promedio de absorbancias	0,331	0,384	0,458
Abs. ABTS - Abs. Muestra	0,309	0,256	0,182
% Inhibición	48,308	39,979	28,423
uM Equivalente Trolox	11,943	10,866	9,372

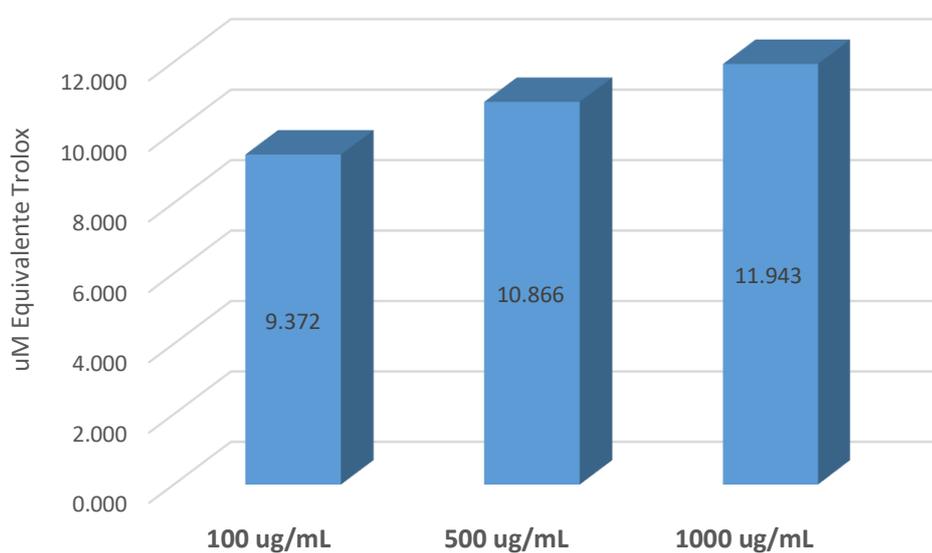


Figura 14: Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en estufa - ABTS.

Extracto metanólico secado por rotavapor

Según el método de ABTS, se obtuvieron: 12,033 en 1000 ug/mL, 11,125 en 500 ug/mL y 9,587 en 100 ug/mL, del extracto secado en el ambiente siendo estos valores expresados en uM Equivalente Trolox.

Tabla 15: Resultados del análisis del extracto metanólico del matico secado en el rotavapor - ABTS.

ROTAVAPOR	1000 ug/mL	500 ug/mL	100 ug/mL
Absorbancias	0,341	0,37	0,441
(Abs. Inicial DPPH: 0.6403	0,312	0,373	0,448
			0,454
Promedio de absorbancias	0,327	0,372	0,448
Abs. DPPH - Abs. Muestra	0,314	0,269	0,193
% Inhibición	49,011	41,983	30,088
uM Equivalente Trolox	12,033	11,125	9,587

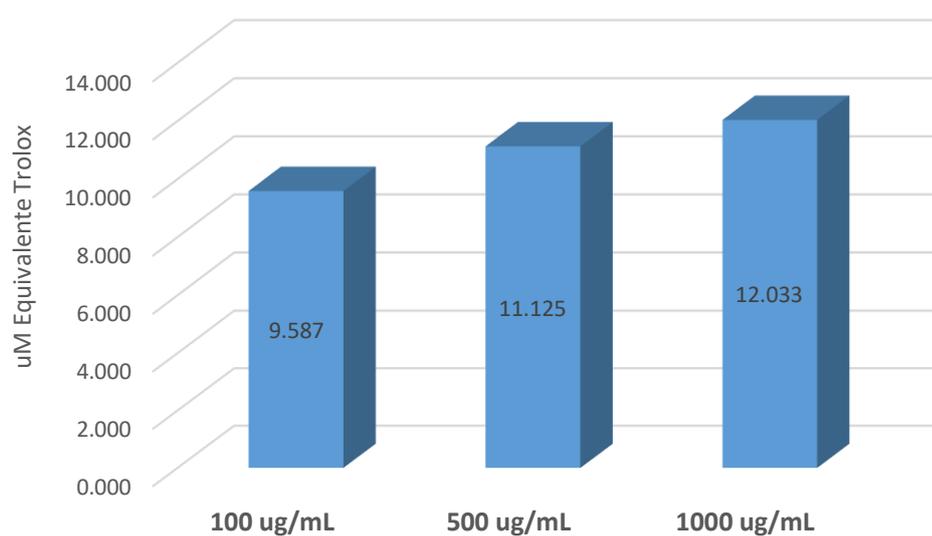


Figura 15: Actividad antioxidante del extracto metanólico del matico secado en rotavapor - ABTS.

Cremagel elaborado por el extracto secado por rotavapor

Según el método de ABTS, se obtuvieron: 72,240 crema estándar, 121,400 crema 1%; 96,220 crema 0.5%; 90,225 crema 0.25%; 84,230 crema 0.10%; del extracto secado en el ambiente siendo estos valores expresados en uM Equivalente Trolox.

Tabla 16: Resultados del análisis de la crema gel del extracto metanólico del matico secado en el rotavapor - ABTS

	STD	1%	0.50%	0.25%	0.10%
Absorbancias	0,775	0,739	0,757	0,758	0,770
Abs. Inicial ABTS: 0.8512	0,785	0,739	0,763	0,772	0,770
Promedio de absorbancias	0,780	0,739	0,760	0,765	0,770
Abs. ABTS - Abs. Muestra	0,071	0,112	0,091	0,086	0,081
% Inhibición	8,365	13,181	10,714	10,127	9,539
uM Equivalente Trolox	72,240	121,400	96,220	90,225	84,230

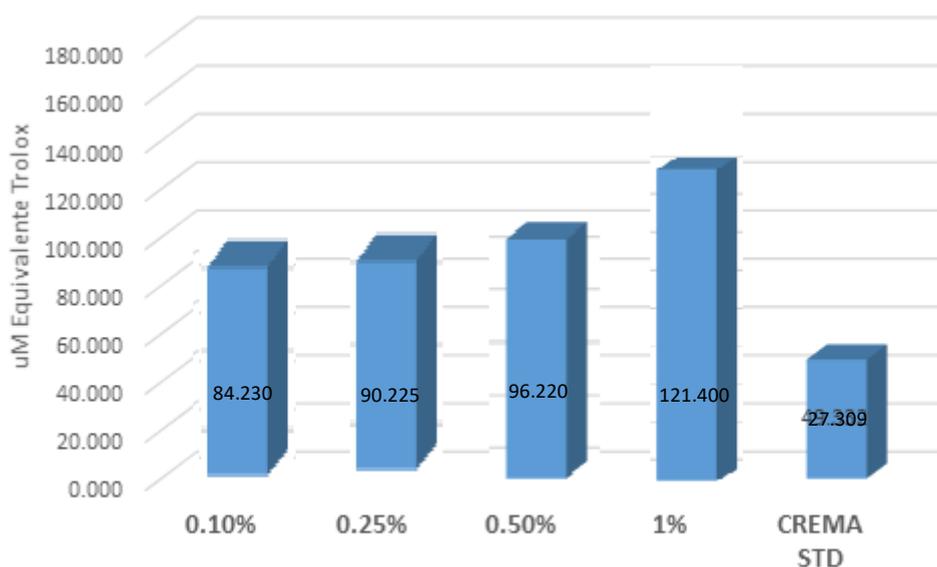


Figura 16: Actividad antioxidante de la crema gel del extracto metanólico del matico secado en rotavapor - ABTS

4.1.4. Actividad fotoprotectora *in vitro* (FPS)

De la crema gel elaborado por el extracto secado por rotavapor *in vitro*

Para la determinación *in vitro* del Factor de Protección Solar (FPS) de la crema gel elaborada en diferentes porcentajes se obtuvieron valores de

Tabla 17: Resultados del análisis de la crema gel del extracto metanólico del matico secado en el rotavapor en FPS *in vitro*

λ(nm)	EE X I	CREMA GEL					
		0.10%	0.25%	0.50%	1%	M.C: 1	M.C: 2
290	0,0150	0,143	0,286	0,392	0,513	1,481	1,475
295	0,0817	0,149	0,289	0,396	0,518	1,636	1,638
300	0,2874	0,163	0,292	0,399	0,523	1,738	1,749
305	0,3278	0,168	0,305	0,412	0,527	1,837	1,842
310	0,1864	0,221	0,349	0,453	0,566	1,756	1,770
315	0,0839	0,186	0,325	0,436	0,543	1,626	1,615
320	0,0180	0,162	0,295	0,406	0,512	1,536	1,530
Sumatoria		0,176	0,309	0,416	0,533	1,749	1,755
FPS promedio		1,760	3,094	4,163	5,334	17,489	17,554

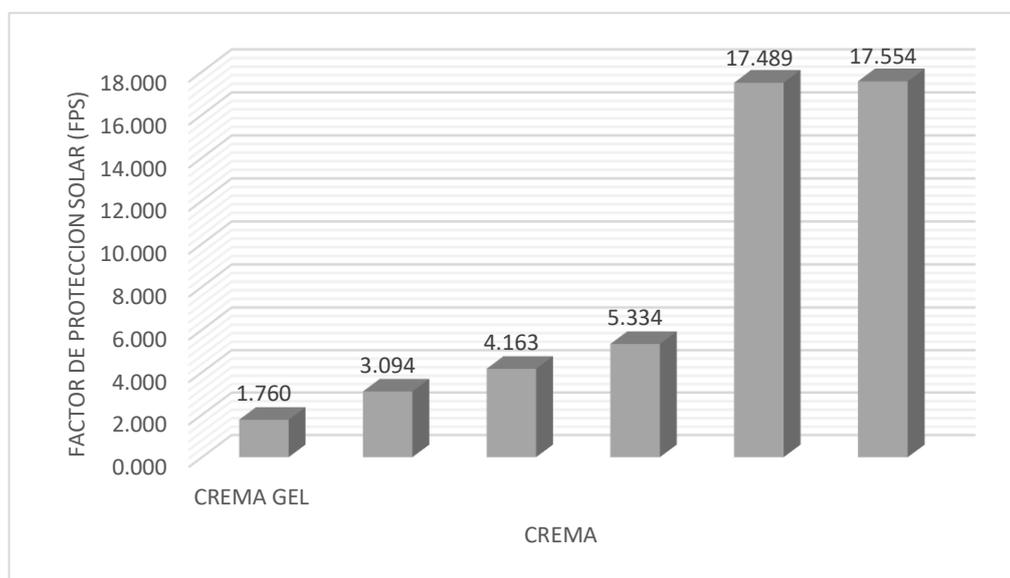


Figura 17: Actividad fotoprotectora de la crema gel del extracto metanólico del matico secado en rotavapor *in vitro*

4.2. Discusión de resultados

La investigación realizada sobre el efecto antioxidante del extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (Matico), sobre el efecto antioxidante y fotoprotector, revelo en el tamizaje fitoquímico realizado una destacable presencia de compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales figuran en la Tabla n°6, estos resultados concuerdan con los obtenidos en otras especies del genero *Piper* y fue demostrado por Y. Correa. (2015) en la tesis Actividad antioxidante y antifúngica de *piperaceaes* de la flora colombiana, en la cual se investigó 8 especies distintas del genero *Piper*.

El extracto metanólico fue dividido en 3 tipos de secado (Ambiente, Rotavapor; estufa) los cuales presentaron resultados de actividad antioxidante similar en sus diferentes concentraciones en que fueron evaluados, lo cual hace presumir que los diferentes tipos de secado no alteran los metabolitos encargados de brindar la capacidad antioxidante a la muestra.

Al realizar la prueba de cromatografía de capa delgada se pudo evidenciar en el cromatofolio la presencia de un color amarillo verdoso, lo cual hace presumir la presencia de metabolitos secundarios como flavonas y flanoles, como lo plantea Olga, L. (2016) en su libro Investigación Fitoquímica.

Las hojas del *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (Matico), brinda una alternativa ideal para ser utilizado en formulaciones cosméticas por poseer en su composición compuestos con actividad biológica ya que se ha comprobado que el género *Piper* cuenta con capacidad antioxidante, antifúngica, entre otras, dichas investigaciones se encuentran presentes en los antecedentes de la presente investigación.

El solvente utilizado para la realización del extracto a base de hojas de *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (Matico) fue Metanol, debido a la naturaleza polar que tienen los compuestos antioxidantes

encontrados en estudios previos de otras especies de *Piper*, pudiendo modificarse la cantidad de estos por el tipo de solvente a utilizar, así lo demuestra A. Mesa. (2011), quien hizo una comparación con otros tipos de solventes en la investigación Actividad antioxidante de *Piper piedecuestanum* trel.& yunck. y *Piper subpedale* trel. & yunck.

Existe actividad antioxidante en todas las concentraciones de extractos en concentraciones de (100 ug/mL, 500 ug/mL y 1000 ug/mL y crema gel (0,1%; 0,25%; 0,5%; 1%) esto podría ser debido a que contiene compuestos fenólicos, ya que muchas investigaciones atribuyen la capacidad antioxidante a la presencia de este tipo de metabolitos secundarios

La actividad fotoprotectora de la crema a base de hojas de *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. (Matico) con otras investigaciones se evidencio mayor cantidad de factor de protección solar a una concentración del 1% (FPS 5,334) cuyo resultado se encuentra en la tabla n°17, comparado con una crema elaborada al 2% (FPS 2.29) a base de hojas de *Piper Aduncum*, esta investigación fue realizada por W, Alayo. (2018) en la tesis llamada Desarrollo de una crema de hojas de *Piper aduncum* L. (*Piperaceae*) con actividad fotoprotectora *in vitro*.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.

1. El tamizaje fitoquímico y cromatografía a los 3 tipos de secado (ambiente, estufa y rotavapor) de la muestra de extracto metanólico de hojas de *Piper elongatum* dando como resultados la presencia de metabolitos secundarios los cuales fueron alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, taninos y cumarinas. La cromatografía de capa delgada se evidencio a través de la interpretación de colores resultante en la placa cromatografía posiblemente debido a la presencia de aurona, flavona y flavonoles (debido al color amarillo verdoso), chalconas (debido al color amarillo fluorescente)
2. La crema gel al 1% elaborada con extracto metanólico de hojas de *Piper elongatum* secado por método de rotavapor, posee la capacidad antioxidante uM equivalente trolox de 163.919 (método DPPH) y una capacidad antioxidante uM equivalente trolox de 121.400 (método ABTS), comparado con una crema estándar
3. La crema gel al 1% elaborada con extracto metanólico de hojas de *Piper elongatum* secado por método de rotavapor, posee un factor de protección solar de 5.334 mientras que las 2 cremas comerciales que se utilizaron como comparación poseen un factor de protección solar de 17.489 y 17.554

5.2 Recomendaciones

1. Realizar estudios para identificar que otros metabolito secundario se encuentra presente en la especie investigada con el fin conocer cuál es la causante de los efectos mencionados en el trabajo.
2. Realizar estudios con mayor concentración del extracto para poder obtener un mayor factor de protección solar

REFERENCIAS

1. Avril M, Brodin M, Dréno B, Dréno P, Gotman A, Jeanmougin M, Le Maitre M, Mischlich D, Reuter G. Sol y Piel beneficios riesgos y protección. Travessera de Gracia, 17-21- 08021 Barcelona (España); 2004.
2. Salazar M. Sol y Cáncer a la Piel. Primera edición. Jaén (España); 2018.
3. Gilchrest BA. Skiing aging and photo aging: an overview. J Am Acad Dermatol 1989; 21: 610-613.
4. MacBride JF. Flora del Perú. Field Museum Natural History Botanical Series. 1937; 13 (2/2):370.
5. Matute Centeno ME. Evaluación in vitro del extracto de *Piper angustifolium* (matico) y la clorhexidina como antisépticos bucales [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Federico Villarreal. Facultad de Odontología; 2007.
6. Masuoka C, Ono M, Ito Y, Nohara T. Antioxidative, Antihyaluronidase and Antityrosinase Activities of Some Constituents from the Aerial Part of *Piper elongatum* VAHL. Food Sci Technol Res. 2003; 9 (2):197-201.
7. Aspectos sobre anatomía, histología, fisiología e histopatología de la piel [en línea] [Citado 2019] 2010; 3(39). Disponible en: <http://articulos.sld.cu/dermatologia/2010/05/01/generalidades-de-la-piel/>
8. Díaz de Villegas Álvarez E, Castillo Menéndez M, Sabatés Martínez M, et al. Radiación ultravioleta. Foto envejecimiento cutáneo. Medisur [en línea][Citado 15 Mayo 2016] 2005; 3(1): 314-333. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180020172002>.
9. Martínez I, Lecha M. 2002. Actualización en fotoprotección. Rev Intern Dermatol Dermocosm. 5:217-220.
10. Tejeda S. Composición química, actividad antioxidante y efecto fungistático sobre *Candida albicans* del aceite esencial de *Piper aduncum* L. “matico”; Lima – Perú; (2018).
11. Alayo W, Fiestas R. Desarrollo de una crema de hojas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) con actividad fotoprotectora in vitro; Trujillo – Perú; (2018).
12. Alva S, Gutiérrez M, Rengifo R. Efecto del extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* en la oxidación de LDL humana y concentración efectiva media para la estabilización de la especie radicalaria *in vitro*.

- Pharmaciencia [Internet]. 2014 [Consultado 2019]; 2(2):8. Disponible en: <http://www.facfar.unitru.edu.pe>
13. Orbe P y Tuesta G. Evaluación de la actividad antioxidante y alelopática de las hojas de *Piper tenuistylum* C.DC. y *Piper lagenaebaccum* Trel; San Juan Bautista – Perú; (2013).
 14. Rojas M y Rumay A. Determinación de la actividad antioxidante in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Piper aduncum* procedente de la Provincia de San Marcos – Departamento de Cajamarca; Trujillo – Perú; (2010).
 15. A. Montero estudio fitoquímico de hojas de la especie vegetal *Piper catripense* (Piperaceae) y evaluación de su capacidad antioxidante. Disponible en: <http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/6767/1/MonteroCollazosAlisonYineth2017.pdf>
 16. Noriega P, Mosquera T, Abad J, Cabezas D, Piedra S, Coronel I, Maldonado M, Bardiserotto A, Vertuani S, Manfredini S. composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial proveniente de la hojas de *piper pubinervulum* c. dc Piperaceae. La granja: Revista de Ciencias de la Vida [Internet]. 2016 [Consultado 2019]; 24(2):111-123. Disponible en: <https://lagranja.ups.edu.ec>
 17. Gutiérrez Y, Scull R, Delgado L, Sánchez A, Jiménez C. PARÁMETROS farmacognósticos y actividad antioxidante de *piper aduncum* subsp *ossanum* trel según el lugar de colecta. Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentaria [Internet]. 2016 [Consultado 2019]; RNPS: 2396 / Vol.2 / N°.1. Disponible en: <http://www.rcfa.uh.cu/index.php/RCFA>
 18. Correa Y, Palomino L, Marino O. Actividad antioxidante y antifúngica de piperaceas de la flora colombiana. Revista Cubana de Plantas Medicinales [Internet]. 2015 [Consultado 2019]; 19(2):167-181. Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu>
 19. Mesa A, Rincón D, Toro J, Tamayo A, Blair S, Rojano B. actividad antioxidante de *piper piedecuestanum* trel. & yunck. y *piper subpedale* trel. & yunck. Rev. Latinoamer. Quím. [Internet]. 2011 [Consultado 2019]; 39(3):9. Disponible en: <http://fq-unam.org/relaquim/index.php/RLQ>

20. Baron E, Suggs A. Introduction to Photobiology. *Dermatol Clin*. 2014; 32:255–66.
21. Cruz M, Acosta D, Barja R. Estudio de fotoestabilidad de protectores solares por espectroscopia fotoacústica. En: IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. Universidade do Vale do Paraíba, p 1505-1508.
22. Chorilli M, Otto T, Alves I, Cavallini E, Leonardi R. Avaliação do uso de protectores solares pela população rural de Piracicaba. *Revista Brasileira de Farmácia*. 2007; 88(4): 167-172.
23. Robertson V; Ward A; Low J; and Reed A; Infrared and Visible Radiation, In: *Electrotherapy Explained. Principles and Practice*, Butterworth Heinemann ELSEVIER 2006; Chapter 16, pp459-98.
24. Cabrera, S., Lissi, E., & Honeyman, J. (2005). *Radiación ultravioleta y salud* (I ed.). Santiago, Chile: Editorial Universitaria S.A.
25. Cáncer.org [Internet] American Cancer Society; 2000 [Atualizado Abril 19, 2017]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel/prevencion-y-deteccion-temprana/que-es-la-radiacion-de-luz-ultravioleta>.
26. Cora Orlando (2006) “Servicio Nacional De Meteorología E Hidrología” disponible en: http://www.senamhi.gob.pe/pdf/bol_rad_solar_Set06.pdf
27. Hirao T. Structure and Function of Skin From a Cosmetic Aspect. In: Sakamoto K, Lochhead R, Yamashita Y, Maibach H, ed. by. *Cosmetic Science and Technology*. 1st ed. 2017. p. 673-83.
28. Unican .es [Internet] Santander:España 2010. Disponible en: ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/
29. Taylor CR, Stern RS, Leyden JJ, Gilchrest BA. Photoaging/ Photodamage and Photoprotection. *J Am Acad Dermatol* 1990; 22:1-15.
30. Fisher GJ, Wang ZQ; Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees J. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *N Engl J Med* 1997; 337: 1419-28
31. Bergfeld WF. The aging skin. *International Journal of Fertility Womens Medicine*. 1997;42(2): 57-66.
32. Bergfeld WF. The aging skin. *International Journal of Fertility Womens Medicine*. 1997;42(2): 57-66.

33. Belsare, D.P., Pal, S.C., Kazi, A.A., Kankate, R.S., and Vanjari, S.S., Evaluation of Antioxidant Activity of Chalcones and Flavonoids. *Int. J. ChemTech. Res.*; (2010); 2(2), 1080-1089.
34. Castro AJ. Composición química del aceite esencial de las hojas de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) "coca", actividad antioxidante y determinación antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* [tesis doctoral]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; (2008).
35. Mayor R. Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. *Revista del Instituto de Medicina Tropical*. 2010;5(2):23-29
36. Hirao T. Structure and Function of Skin From a Cosmetic Aspect. In: Sakamoto K, Lochhead R, Yamashita Y, Maibach H, ed. by. *Cosmetic Science and Technology*. 1st ed. 2017. p. 673-83.
37. Katalinic v., Modun D., Music I., Boban M. Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power FRAP assays. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*; (2005). 140: 47-52.
38. Doria E., Buonocore D., Focarelli A., Marzatico F. (2012). Relationship between human aging muscle and oxidative system pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2012: 13 paginas.
39. Quevedo D. Factores Comportamentales hacia la Fotoprotección [tesis de postgrado]. Bogotá, Colombia: Centro de Investigaciones de Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario; 201 O.
40. Sociedad Americana Contra El Cáncer. Cáncer de piel: prevención y detección temprana del cáncer de piel. Estados Unidos. ACS. 2017. [citado el 15 de junio 2017]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-depiel/prevencion-y-deteccion-temprana.html>
41. SENAMHI. Radiación ultravioleta UV-B en Arequipa: rumbo a la COP20. Boletín informativo Vol. 5. SENAMHI. 2014 [citado el 22 de junio 2017]. Disponible en: <http://www.senamhi.gob.pe/load/file/04002SENA-6.pdf>
42. Thomas E. Conocimientos y actitudes relacionados a exposición solar y fotoprotección en pacientes ambulatorios atendidos en los servicios de

- dermatología de cuatro hospitales de la ciudad de Lima, Perú. [Tesis]. Lima, 72 Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2010 [citado el 28 de junio 2017].
43. MacNeal R. Generalidades sobre los efectos de la luz solar. Manual MSD. 2017 [citado el 27 de junio 2017]. Disponible en: www.msmanuals.com/espe/professional/trastornosc%C3%A1neos/reacciones-a-la-luzsolar/generalidades-sobre-los-efectos-de-la-luz-solar
 44. Bernerd F. Expresión Génica de la Fotoprotección [revista en línea]. 2010. [acceso 05 de setiembre de 2012]; 38(4):167-169. Disponible en:
 45. Rai R, Srinivas CR. Phoprotection. Indian J Dermatol Venereol Leprol [revista en línea] 2007 [acceso 02 de diciembre de 2013]; 73(2). Disponible en: www.bioline.org.br/pdf?dv07028
 46. Baron E, et al. Selection of sunscreen and sun-protective measures. [internet] En: Uptodate: Walthman (MA) [acceso diciembre del 2013] Disponible en: <http://www.uptodate.com>
 47. AHFS Drug Information. Sunscreens (Topical) [internet] American Society of Health-System Pharmacists c2013. [acceso diciembre del 2013]. Disponible en: <http://www.medicinescomplete.com/mc/ahfs/current/>
 48. Sunscreens. Evaluaciones de DRUGDEX [internet]. © 2014 Truven Health Analytics Inc. Disponible en: <http://www.micromedexsolutions.com/micromedex2/librarian>
 49. Moreno MI y Moreno LH. Fotoprotección. Rev Asoc Colomb Dermatol. 2010; 18 (1): 31-39
 50. Schalka S, Reis V. Sun protection factor: meaning and controversies. An. Sras. Dermatol [revista en línea] 2011. [acceso 03 de febrero de 2013]; 86(3). Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0365-05962011000300013&script=sci_arttext&tlng=en
 51. Leslie Taylor. Technical Data Report for Matico [Internet]. Carson City, NV: Copyrighted; 2006 [2019; 2019]. Disponible en: dirección electrónica. <http://www.rain-tree.com/reports/matico-tech-report.pdf>

52. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Clasificación taxonómica del Matico. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Museo de Historia Natural; 2018.
53. Osuna L, Tapia M y Aguilar A. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. España: Publicaciones y ediciones de la Universidad de Barcelona; 2005.
54. Plantas medicinales que curan [Internet]. [consultado mayo 2019]. Disponible en: www.plantasmedicinalesquecuran1.blogspot.com/2012/12/plantas-medicinales-matico-descripcion.html
55. Olga R. Lock. Investigación Fitoquímica. 3ra. Ed. Lima – Perú: Departamento de Ciencias – Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016
56. Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo [Internet]. España; 2013 [consultado mayo 2019] 1:7 Disponible en: www.insst.es/InshtWeb/Contenidos/Documentación/n-butanol.pdf
57. Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo [Internet]. España; 2018 [consultado mayo 2019] 1:10 Disponible en: www.insst.es/InshtWeb/Contenidos/Documentación/ácidoacético
58. Friaa D. Kinetics of the reaction between the antioxidant Trolox and the free radical DPPH[•] in semi-aqueous solution. *Org. Biomol. Chem.* 2006.
59. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol* 22, 25-30, 1995.
60. Re R., Pellegrini Ni., Proteggente A., Yang M., Rice Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*; 1999; 26: 1231–1237.
61. Mansur J, Breder M, Mansur M, Azulay R. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.* 1986; 61 (1): 121-124.
62. Sayre R, Desrochers D, Marlow E. Sunscreen testing methods: in vitro predictions of effectiveness. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 1980; 31 (1): 133-43

ANEXO 1: Certificado Botánico



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 287-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama fértil), recibida de **Juan Carlos SALCEDO GALVEZ**, estudiante de la Facultad de Ciencias Farmacológicas y Bioquímica, de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel.**, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: MAGNOLLIDAE

ORDEN: PIPERALES

FAMILIA: PIPERACEAE

GENERO: *Piper*

ESPECIE: *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel.

Nombre vulgar: "matico".
Determinado por: Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere pertinente.

Lima, 20 de agosto de 2018


Mag. Asunción A. Cano Echevarría
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

ANEXO 2: Fotos de la parte experimental

Preparación de la muestra (polvo)

Árbol del Piper elongatum
Apurímac - Ocrabamba



Hojas frescas



Secado en estufa



Preparación para maceración de las hojas

Pulverizado de hojas secas



Maceración

Polvo de hojas matico



Metanol



Filtración del extracto



Métodos de secado



Estufa



Ambiente



Rotavapor

Análisis fitoquímico

Muestra patrón



Compuestos fenólicos



Flavonoides



Alcaloides



DRAGENDORFF



MAYER

Quinonas y taninos



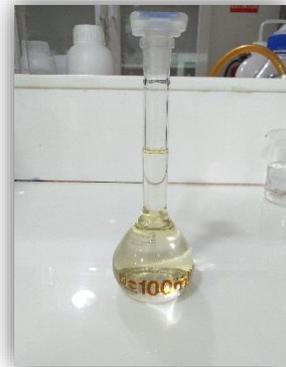
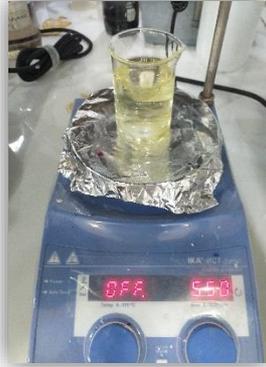
- **ABTS**



Elaboración de la crema gel



Análisis de la crema gel para FPS



ANEXO 3: MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y FOTOPROTECTORA *in vitro* DE UNA CREMAGEL ELABORADO A BASE DEL EXTRACTO METANOLICO DE LAS HOJAS DE *Piper elongatum* Vahl. var. *salviaefolium* (Miq.) Trel. matico)

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	V1: INDEPENDIENTE	INDICADORES	METODO DE INVESTIGACION
<ul style="list-style-type: none"> ¿La cremagel del extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel. (matico) poseerá capacidad antioxidante y fotoprotectora <i>in vitro</i>? 	<ul style="list-style-type: none"> Determinar la actividad antioxidante y fotoprotectora <i>in vitro</i> de la cremagel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico). 	<ul style="list-style-type: none"> La cremagel elaborada del extracto metanólico de las hojas <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico) posee actividad antioxidante y fotoprotectora <i>in vitro</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> La crema gel elaborado del extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>Salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico) 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Identificación Fitoquímica ✓ Metodo DPPH ✓ Metodo ABTS ✓ Metodo de Mansur 	<p>Tipo y diseño</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Tipo: Transversal, prospectivo, cuantitativo. ● Diseño: Experimental y analítico. <p>Muestra de la investigación</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Población: Especie vegetal: <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>Salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico) perteneciente al departamento de Abancay; Pichirua – Ocrabamba – Perú. ● Muestra: 2 kilos de Hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>Salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico) <p>Técnicas e instrumentos de recolección de datos</p> <p>Observación y registro de datos</p>
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS ESPECIFICAS	V2: DEPENDIENTE	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Evaluación de la actividad antioxidante y fotoprotectora 	
<ul style="list-style-type: none"> ✓ ¿Cuáles serán las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel. (matico)? ✓ ¿Cuál será la capacidad antioxidante <i>in vitro</i> de la cremagel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico)? ✓ ¿Cuál será la capacidad fotoprotectora <i>in vitro</i> de una crema gel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico)? 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Identificar las clases de metabolitos presentes en el extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>Salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico) ✓ Evaluar la capacidad antioxidante <i>in vitro</i> de la cremagel elaborado a base del extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel / (matico). ✓ Determinar la capacidad fotoprotectora <i>in vitro</i> de la crema gel elaborada con el extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico) comparado con una formulación comercial. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Se identificó clases de metabolitos secundarios en el extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico). ✓ El extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico) posee capacidad antioxidante. ✓ El extracto metanólico de las hojas del <i>Piper elongatum</i> Vahl. Var. <i>salviaefolium</i> (Miq.) Trel (matico) posee capacidad fotoprotectora. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Efecto antioxidante y fotoprotector. 		

Integrantes: - Rabanal Hurtado, diana Libia
 - Salcedo Chavez, Juan Carlos