

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS:

**Actividad antiinflamatoria y antioxidante *in vitro* del extracto
hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum
tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Ayacucho 2023**

Para optar el título profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. Tania Tarcila VILA SOSA

ASESOR:

Dr. Edwin Carlos ENCISO ROCA

AYACUCHO - PERÚ

2024

A Dios por ser mi creador, a Enver, por su amor y apoyo incondicional, a Tanilsa y Renzo, por ser mi fortaleza e inspiración para seguir adelante, y a todas aquellas personas que contribuyeron en la ejecución del presente trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi *Alma Mater*, por acogerme en su prestigiosa institución y brindarme las herramientas para mi realización profesional.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, así como a su plana de docentes y administrativos, quienes contribuyeron en mi desarrollo profesional.

Al Dr. Q.F. Edwin Carlos Enciso Roca, asesor de la presente tesis, por ser guía y versar sus conocimientos durante el desarrollo de esta investigación.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”.	6
2.3. Compuestos fenólicos	9
2.4. Inflamación	11
2.5. Radicales libres	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Lugar de ejecución	21
3.2. Población y muestras	21
3.3. Metodología y recolección de datos	21
3.4. Tipo y diseño de investigación.	28
3.5. Análisis de datos	29
IV. RESULTADOS	31
V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	45
VII. RECOMENDACIONES	47
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	57

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Nombres de las variedades de mashua	8
Tabla 2. Clasificación de los compuestos fenólicos	10
Tabla 3. Estandarización del método de estabilización de la membrana de eritrocitos humanos	25
Tabla 4. Método de estabilización de la membrana de eritrocitos humanos	25
Tabla 5. Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. "mashua negra"	32
Tabla 6. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. "mashua negra" por el método DPPH y ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$ de muestra).	36

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura química de los compuestos fenólicos	9
Figura 2. Estructura química de los flavonoides	10
Figura 3. Estructura química de la dexametasona	14
Figura 4. Proceso secuencial de la inflamación	14
Figura 5. Estructura química del diclofenaco	16
Figura 6. Mecanismo de acción de los antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos	16
Figura 7. Mecanismo antirradicalaria de los antioxidantes	19
Figura 8. Reacción del radical DPPH con un antioxidante	19
Figura 9. Reacción del radical catiónico ABTS con un antioxidante	20
Figura 10. Estructura química del Trolox	20
Figura 11. Actividad antiinflamatoria expresado en porcentaje de protección de membrana de eritrocitos humanos del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. "mashua negra".	33
Figura 12. Porcentaje de la actividad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. "mashua negra".	34
Figura 13. Porcentaje de la actividad antioxidante por el método ABTS del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. "mashua negra".	35

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Constancia de identificación botánica de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”.	58
Anexo 2. Certificado de la identificación de la variedad de muestra de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”.	59
Anexo 3. Diagrama de flujo para la obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado.	60
Anexo 4. Preparación de la muestra para la obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado	61
Anexo 5. Obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado.	62
Anexo 6. Resultados de identificación de los metabolitos.	63
Anexo 7. Diagrama de flujo para la determinación de la actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> .	65
Anexo 8. Preparación de la suspensión de eritrocitos para la determinación de la actividad antiinflamatoria.	66
Anexo 9. Estandarización del método de protección de membrana de eritrocitos para determinar la actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> .	67
Anexo 10. Determinación de la actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> .	68
Anexo 11. Resultados de la determinación de la actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> .	69
Anexo 12. Diagrama de flujo para la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH.	70
Anexo 13. Curva de calibración de Trolox por el método DPPH.	71
Anexo 14. Actividad antioxidante por el método DPPH.	73
Anexo 15. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH	74
Anexo 16. Diagrama de flujo para la determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS.	75
Anexo 17. Curva de calibración de Trolox por el método ABTS.	76
Anexo 18. Actividad antioxidante por el método ABTS.	78
Anexo 19. Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS	79
Anexo 20. Reacciones químicas del tamizaje fitoquímico	80

Anexo 21.	Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas de la prueba de protección de membrana de eritrocitos humanos.	81
Anexo 22.	Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de protección de membrana de eritrocitos humanos.	82
Anexo 23.	Prueba de Tukey del porcentaje de protección de membrana de eritrocitos humanos.	83
Anexo 24.	Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas para el método de DPPH y ABTS.	84
Anexo 25.	Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante por el método DPPH.	85
Anexo 26.	Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante por el método ABTS.	86
Anexo 27.	Matriz de consistencia	87

RESUMEN

La mashua es un cultivo de gran valor alimenticio y medicinal por parte de sus tubérculos, en los que destacan su capacidad antioxidante y antiinflamatoria. Se planteó como objetivo evaluar la actividad antiinflamatoria y antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”, el cual fue desarrollado en los laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud. Para evaluar la actividad antiinflamatoria se utilizó el método de estabilización de membrana de eritrocitos humanos, y para la actividad antioxidante el método de radical DPPH y radical ABTS. La actividad antiinflamatoria expresado como porcentaje de protección de membrana a las concentraciones de 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 y 3,0 mg/mL fueron de 13,65 %; 21,73 %; 24,80 %; 34,61 % y 78,70 % respectivamente, los estándares dexametasona y diclofenaco, presentan valores de 33,19 % y 52,54 % ($p = 0,001$). Mientras que el porcentaje de la actividad antioxidante a las concentraciones de 500,0; 1000,0 y 3000,0 $\mu\text{g/mL}$ utilizando el método DPPH fueron de 43,26 %; 58,06 % y 72,32 %, y con el método ABTS 32,21 %; 64,11 % y 93,81 % respectivamente. En conclusión, el extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua” presenta actividad antiinflamatoria y antioxidante *in vitro*.

Palabras clave: *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”, actividad antiinflamatoria, actividad antioxidante.

I. INTRODUCCIÓN

La inflamación es una reacción del cuerpo ante diversas agresiones internas y externas, y es una de las principales razones por las que las personas buscan atención médica a nivel mundial. Una respuesta inflamatoria aguda sobre algún agente se manifiesta con la presencia de absceso en la dermis, esputo amarillento y líquido cefalorraquídeo turbio. Entre las inflamaciones de bajo grado encontramos el envejecimiento, obesidad, enfermedades metabólicas y degenerativas.¹ También mencionar que el estrés oxidativo está íntimamente relacionado con el desarrollo de los procesos inflamatorios, de tal forma que uno conlleva al otro y viceversa, además de ser el responsable de la aparición de otras afecciones, debido a la actividad de unas especies químicas muy reactivas denominadas radicales libres, que generan estrés oxidativo sobre las proteínas, el ADN y los lípidos, afectando su funcionamiento y causando mutaciones.^{2,3}

El uso de la medicina tradicional o complementaria está creciendo cada vez más, especialmente en países en desarrollo. En muchos de estos lugares, el uso de plantas medicinales a menudo se convierte en la única opción de tratamiento al alcance, por esta razón la OMS promueve la utilización segura y eficaz de la medicina tradicional adecuadamente comprobada a través de la reglamentación y la investigación, el cual representa una nueva alternativa terapéutica a la medicina estándar, que se ha evidenciado que además de presentar limitada accesibilidad a la población por sus elevados costos, presenta múltiples reacciones indeseadas.^{4,5}

El *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua” es un cultivo muy importante no solo por ser parte de la identidad cultural de los pobladores andinos, sino también debido al valor alimenticio y medicinal de sus tubérculos.⁶ De acuerdo a los conocimientos ancestrales el *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua”, presenta una amplia aplicación en la medicina tradicional, utilizándose como agente

antioxidante por el alto contenido de metabolitos secundario como son los polifenoles, antocianinas y carotenoides. Además, se le han descrito propiedades antibióticas, nematocidas, anticancerígenas y diuréticas.⁷ También es utilizada para tratar la inflamación de la próstata, dolores genitourinarios, contra la anemia y combatir los cálculos renales, además de la reducir la libido sexual.⁴

Frente a estos problemas de salud que son las inflamaciones y el estrés oxidativo, el presente trabajo pretende dar mayor soporte al uso medicinal que se le atribuye al *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua”, además de promover su cultivo y consumo, sobre todo en las poblaciones de las regiones altoandinas de la sierra peruana.⁸

La presente investigación se delimitará a demostrar la actividad antiinflamatoria y antioxidantes del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. Para lo cual se utilizó la metodología de protección de membrana de eritrocitos humanos, y los métodos de secuestro de radicales libres DPPH y ABTS.

Objetivo general

Evaluar la actividad antiinflamatoria y antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”.

Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”.
- Determinar la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”.
- Determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Ibarra⁹, evaluó el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* “mashua” en *Rattus rattus var. Albinus*. En el desarrollo de la investigación utilizó el método de edema subplantar, inducido por carragenina, para lo cual se hicieron uso de 16 animales de prueba, divididos en cuatro grupos, utilizando diclofenaco al 1 % como medicamento estándar, y los extractos al 1 % y 2,5 % de concentración. En el grupo blanco la inflamación se presenta a las 5 horas, el grupo estándar presentó un porcentaje de actividad antiinflamatoria de 71,7 % en la primera hora, 88,7 % a las tres horas y 97,3 % a las cinco horas, mientras que los grupos experimentales mostraron un porcentaje de inhibición inflamatoria de la siguiente forma: para el extracto al 1 % en una hora fue 36,6 %; a las tres horas 69 % y a las cinco horas 95 %, para el extracto al 2,5 % en 1 hora fue de 41,5 %, a las tres horas 74,6 % y a las cinco horas 97,5 %. Se menciona finalmente por los resultados obtenidos en la investigación que el extracto de *Tropaeolum tuberosum* “mashua” tiene efecto antiinflamatorio.

Linares *et al.*¹⁰, evaluaron la actividad antioxidante *in vitro* y antiinflamatoria *in vivo*, del extracto hidroalcohólico de las variedades roja y púrpura de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua”, en su estudio también incluyó cuantificar los fenoles totales. En la investigación la cuantificación de polifenoles totales fue realizado por el método de Folin-Ciocalteu, mostrando que la mashua roja contiene una cantidad superior de polifenoles de 843,60 mg EAG/100 g en comparación a la mashua púrpura que mostró un valor de 450,23 mg EAG/100 g. La actividad antioxidante fue evaluada por los métodos DPPH y ABTS, donde la mashua púrpura, obtuvo un IC₅₀ de 106,57 µg/mL y 147,31 µg/mL con ambos métodos respectivamente, mientras que la mashua roja, mostró un IC₅₀ de 67,37 µg/mL y 86,156 µg/mL también por ambos métodos. Los resultados de la actividad

antiinflamatoria *in vivo*, mostraron que el mayor porcentaje de eficiencia antiinflamatoria lo presentó la variedad roja a las 6 horas con un 40,81 % a la concentración de 200 mg/kg. Se concluye haciendo referencia que la mashua roja mostró una actividad antioxidante y antiinflamatoria más alta, así como una mayor cantidad de polifenoles totales en comparación con la mashua púrpura.

Riojas¹¹, en su trabajo sobre la actividad antioxidante y polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de tres variedades de tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R & P. Utilizó la metodología de radical DPPH y ABTS para evaluar su actividad antioxidante, mientras que el contenido de polifenoles fue cuantificado por el método de Folin – Cioaltea. Los resultados mostraron que la capacidad de secuestro de radical DPPH para las variedades “yana puca”, “yana rosado ñahui” y “qello” presentaron un IC₅₀ de 127,44; 154,66 y 184,64 µg/mL respectivamente, y con el ensayo de ABTS los valores de IC₅₀ fueron de 128,47; 156,20 y 199,52 µg/mL respectivamente. El contenido de polifenoles fue de 121,19; 118,19 y 86,61 EAG/100 g respectivamente. Finalmente refiere que el extracto hidroalcohólico de los tres ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* R & P. “mashua” presentan actividad antioxidante y polifenoles totales.

Córdova *et al.*¹², en su trabajo sobre la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R & P. “mashua negra” en ratas albinas, se administraron dosis del 100, 250 y 500 mg/kg del extracto en un volumen igual a 5 mL, además de utilizar como estándar a la furosemina a dosis de 20 mg/kg por vía intraperitoneal. Se muestra que la dosis de 100 mg/kg, registra una diuresis de 2,8 mL, mientras que la dosis de 250 mg/kg; 3,3 mL de diuresis y la dosis de 500 mg/kg; 3,8 mL de diuresis, siendo el medicamento de referencia la que tiene mejor actividad diurética con 6,90 mL. Se concluye mencionando que el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* R & P. “mashua negra”, posee actividad diurética a diferentes concentraciones, obteniendo valores inferiores a la medicación estándar.

Flores *et al.*¹³, llevaron a cabo un estudio sobre el conocimiento ancestral en la curación de la prostatitis a base de isaño (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón). La metodología que se utilizó para el estudio es de tipo cuantitativo, etnográfico y fenomenológico. La población en estudio estuvo conformada por adultos mayores que saben sobre la prevención y curación de los problemas de próstata con isaño ya sea cultivada o la silvestre. Se utilizó la técnica de entrevista semiestructurada

para obtener la información de campo. El resultado sugiere que el isaño silvestre es el tubérculo que cumple el papel curativo de la prostatitis y no el isaño cultivado, que solo cumple el papel de prevención. El trabajo concluye mencionando que el isaño silvestre puede ser una solución alternativa para curar la prostatitis que sufren muchas personas, tanto los pobladores altoandinos como de otros lugares geográficos.

Mendoza¹⁴, desarrolló una investigación en la que determinó la actividad antiinflamatoria *in vitro* e *in vivo* de las semillas germinadas de cinco variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. Utilizando la metodología de estabilización de la membrana de eritrocitos humanos para el estudio *in vitro*. Los resultados mostraron que el porcentaje de protección de la membrana, a la concentración de 5 mg/mL para los extractos fueron de: 81,59 %; 78,62 %; 73,23 %; 66,82 % y 69,20 % para las cinco variedades en estudio, mientras que los estándares de referencia (diclofenaco y dexametasona) tuvieron un porcentaje de protección de 72,09 % y 85,28 %. Se concluye mencionando que el extracto hidroalcohólico de las semillas germinadas de las variedades evaluadas, si presentan actividad antiinflamatoria *in vitro*.

Salazar *et al.*¹⁵, evaluaron la actividad antiinflamatoria *in vitro* de los extractos etanólico y hexánico de tallos de *Cuscuta jalapensis* Schltdl. En su estudio también se utilizó la metodología de estabilidad de la membrana del eritrocito frente a dos agentes inductores de hemólisis, que fueron solución salina hipotónica y calor. Se realizó una curva de concentración respuesta de la actividad antiinflamatoria, partiendo de 50, 100, 200 y 400 µg/mL de ambos extractos, empleando como control la indometacina 100 µg/mL. Los resultados indicaron que todas las concentraciones ensayadas de los extractos, produjeron un efecto estabilizador de la membrana. Para la evaluación con solución salina hipotónica el extracto etanólico tuvo un efecto igual a la indometacina 100 µg/mL, con valores de hemólisis por debajo de 5 %, por el contrario, las concentraciones del extracto hexánico de 50, 100 y 200 µg/mL mostraron una hemólisis mayor a 5 %, y para la concentración de 400 µg/mL la hemólisis fue de 32 %, de esta manera se demuestra que el extracto hexánico tiene menor actividad antiinflamatoria en esta prueba. En conclusión, el extracto de *Cuscuta jalapensis*, presenta actividad antiinflamatoria *in vitro* siendo mejor el extracto etanólico.

2.2. *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”

2.2.1. Clasificación taxonómica

La muestra de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Fue clasificada de acuerdo al sistema Cronquist A 1988, por una especialista en taxonomía y sistemática de plantas.

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ROSIDAE

ORDEN : GERANIALES

FAMILIA : TROPAEOLACEAE

GÉNERO : *Tropaeolum*

ESPECIE : *Tropaeolum tuberosum* R. & P.

N.V. : “mashua negra”

Fuente: Blga. Laura Aucasime Medina.

2.2.2. Descripción botánica

La mashua “*Tropaeolum tuberosum* R. & P.”, es una planta herbácea perenne, anual, que presenta un sabor agrio, algo picoso, parecido al sabor de la mostaza, esto debido a la presencia de un compuesto denominado isotiocianato, el cual es eliminado con la cocción. Los tallos son de forma cilíndrica; su crecimiento es recto o en posición semi postrada y presenta ciertas ramificaciones de color violeta oscuro. Sus hojas son de color verde oscuro con forma redondeada, además son pecioladas, glabras, palmatisectas, palminervia, con tres a cinco lóbulos. Las flores tienen un cáliz mayormente de color rojo a anaranjado, las cuales presentan tres sépalos fusionados que se extienden en la base formando un espolón, el cual presenta tricomas que secretan néctar. Corola de amarillo a anaranjado con venas más oscuras. Tienen entre 8 y 13 estambres, las anteras son pequeñas y caedizas. Las flores son pentámeras, gamosépala, solitarias, pedunculadas. El fruto es seco indehiscente, esquizocárpico, con tres semillas, la que posee un embrión recto y cotiledones gruesos y carnosos. Los tubérculos son cónicos, alargados y de yemas profundas, está cubierto por una epidermis cerosa. Sus colores son variados, presentándose desde blanco, rojo, morado, amarillo, negro y gris.^{16,17}

2.2.3. Origen y distribución

La mashua tiene su origen en la región andina, en donde se puede hallar tanto en forma silvestre y como cultivada. Se estima que la mashua se originó entre los años 650 y 1350, en la cueva de Huachumachay, ubicada en el valle de Jauja en Perú. Se han encontrado representaciones de mashua en la cultura Nazca, lo que sugiere que nuestros antepasados la cultivaban y utilizaban. La mashua se encuentra de forma natural desde Colombia hasta Argentina, en altitudes que van de los 2400 hasta los 4300 msnm. Su distribución geográfica abarca desde los andes centrales de Colombia, Bolivia, Ecuador y Perú, siendo las áreas más extensas de cultivo en Perú y Bolivia, donde generalmente se siembra junto con otros tubérculos, como la oca, el olluco y las papas. Aunque el área de siembra de la mashua es mucho menor al de las otras tuberosas andinas, su cultivo no deja de ser importante, pues forma parte de la seguridad alimentaria de miles de familias campesinas en los andes a través del autoconsumo o la generación de ingresos monetarios.^{18,19}

2.2.4. Composición química

La mashua cuenta con una elevada concentración en minerales como el calcio, fosforo, potasio, magnesio, zinc y hierro; presenta un alto valor nutricional por su contenido en 15 % proteínas, 20 % carbohidratos, 80 % agua, almidón, aminoácidos esenciales, vitaminas B y C y fibra.^{19,20}

Entre los componentes bioactivos con que cuenta la mashua esta los glucosinolatos, isotiocianatos, polifenoles, flavonoides, antocianinas y carotenoides, las cuales le dan sus propiedades medicinales.^{19,20}

2.2.5. Usos en la medicina

Existen diferentes estudios que nos hablan del uso medicinal que se le atribuye a la mashua negra, como son el alivio de dolencias renales, hepáticos, malestares urinarios y próstata; impiden la anemia y gastritis, aumentan la visión, mejora el reumatismo. La mashua puede reducir el potencial reproductor en los varones, y además tiene propiedades antioxidantes y antidiabéticas.¹⁹

La mashua es utilizada para el tratamiento contra las enfermedades del tracto urinario. Tal como antibacteriano, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, y *Staphylococcus sp.*

Antiafrodisiaco. Disminuye la cantidad de testosterona y dihidrotestosterona en la sangre. Se dice que reduce el instinto sexual.⁴

Otras aplicaciones que presenta la mashua es su actividad antiséptica y antiparasitaria, ya que en los terrenos de cultivo es muy resistente a insectos como gorgojo, insectos en general y gusano nematodo.²⁰

Por el alto contenido en compuestos bioactivos la mashua presenta un potencial con propiedades antibióticas, nematicidas, diuréticas, neuroprotectoras, desinflamantes, antivirales, anticancerígenas y citotóxicas.^{19,20}

2.2.6. Variedades de *Tropaeolum tuberosum* R. & P.

El Perú cuenta con más de 100 variedades reconocidas de la mashua, las cuales se extienden en las regiones de Ancash, Apurímac, Ayacucho, Huánuco, Junín y Puno.⁶ Las diferencias entre las variedades se deben a los diversos colores que adquiere sus tubérculos. La cáscara de los tubérculos puede variar de color desde crema a púrpura oscuro, pasando por unos tonos como amarillo, naranja y violeta. El nombre de las variedades que adquiere la mashua se debe al color que presentan.^{21,22}

Tabla 1. Nombres de las variedades de mashua.^{21,22}

Nombre	Color de los tubérculos
Occe añu	Plomo
Yana añu	Negro
Checce añu	Gris
Ckello añu	Amarillo
Kello añu	Violeta
Muru añu	Morado
Puca añu	Rojo
Yurac añu	Blanco
Mashua Quillu	Amarillo
Mashua yana saco	Negro

La mashua negra presenta un predominante color púrpura grisáceo en la superficie de sus tubérculos, la pulpa es de color naranja amarillento, pero también otros colores que puede adquirir la pulpa son de una púrpura distribuido en la zona cortical, la forma del tubérculo es cilíndrico fusiforme con ojos profundos.²³

2.2. Proceso de liofilización

La liofilización es una operación de secado por sublimación en ausencia de aire. En este proceso la sustancia que se somete a secado se congela, luego el agua se elimina como vapor por sublimación en una cámara al vacío. Los vapores sublimados son extraídos con bombas de vacío mecánicos o eyectores de chorro de vapor. La liofilización permite la eliminación del agua de los productos, impidiendo de esta forma la proliferación bacteriana, además reducen la acción enzimática, aumentando de esta forma su conservación, también, por las temperaturas bajas, permiten reducir las reacciones de degradación que ocurren durante los procesos de secados comunes. Las fases de la liofilización incluyen:⁶⁶

Congelamiento: En esta etapa, el producto es enfriado (-50 °C y -80 °C) hasta que toda el agua presente adquiera el estado sólido. El rápido enfriamiento produce cristales pequeños que dificultan su secado, mientras que el enfriamiento lento produce cristales grandes, con la formación de grandes poros que facilitan el secado.²⁴

2.3. Compuestos fenólicos

Son metabolitos secundarios presentan en forma abundancia en las plantas, cuya cantidad puede variar a lo largo de su vida. Numerosas acciones son desempeñadas por los polifenoles, como el aprovechamiento de nutrientes, la formación de proteínas, la actividad enzimática, la producción de componentes estructurales y la defensa contra condiciones adversas, como las infecciones bacterianas y la defensa contra los herbívoros. Un anillo aromático y un grupo hidroxilo conforman la estructura química de los compuestos fenólicos, los cuales pueden incluir funciones como glucósidos y ésteres. Mas de ocho mil estructuras fenólicas fueron identificada; siendo los responsables de las características del color, sabor, aroma y propiedades antioxidantes y nutritivas de las plantas.²⁵

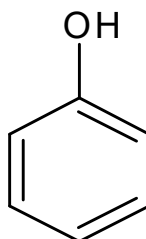


Figura 1. Estructura química de los compuestos fenólicos.
(Hidroxibenceno)

2.3.1. Clasificación de compuestos fenólicos

Debido a la gran cantidad de compuestos fenólicos conocidos, su clasificación resulta en una actividad compleja. Siendo la propuesta por Waterhouse (2002), una de las más usadas, que agrupa a los fenoles en función de su estructura química básica.^{25,26}

Tabla 2. Clasificación de los compuestos fenólicos

	Estructura	Clasificación
Flavonoides	$C_6 - C_3 - C_6$	Flavonoles
		Flavonas
		Flavan-3-oles
		Proantocianidinas (taninos no hidrolizables)
		Antocianidinas (Antocianos)
		Flavanonas
		Isoflavonas
No Flavonoides	$C_6 - C_3$	Ácidos hidroxicinámicos
	$C_6 - C_1$	Ácidos hidroxibenzoicos
	$(C_6 - C_1) + \text{Azúcar}$	Taninos hidrolizables
	$(C_6 - C_3) + \text{Azúcar}$	
	$C_6 - C_2 - C_6$	Estilbenos

Esta clasificación separa a los polifenoles en flavonoides y no flavonoides. Los compuestos flavonoides están formados por dos ciclos bencenos (A y B) unidos por un anillo heterocíclico oxigenado de tipo pirano (C).²⁶

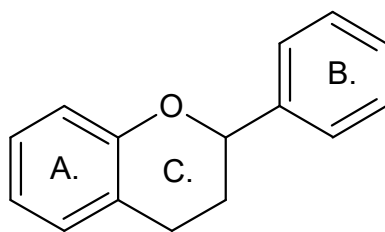


Figura 2. Estructura química de los flavonoides.
(2-fenil-1,4-benzopirona)

2.3.2. Actividad biológica de los compuestos fenólicos

Numerosos estudios han indicado que el consumo de frutas y verduras puede disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer. Se cree que esto se debe en parte a la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en estos alimentos. Estos compuestos pueden ayudar a proteger las células del daño oxidativo, prevenir la oxidación lipídica, la mutación del ADN. La propiedad antioxidante de los polifenoles se relaciona con su actividad para quelar los metales, reprimir la lipoxigenasa y capturar radicales libres.²⁶ También se le han atribuido diversas actividades biológicas como son actividad antidiabética, antiinflamatoria, anticancerígena, analgésico, vasodilatador, antidepresivo, antihipertensivo, antitrombótico, anticoagulante, antimicrobiano, antienvejecimiento, antialérgico y contra la osteoporosis.²⁷

2.4. Inflamación

La inflamación es una respuesta del sistema inmunológico de nuestro cuerpo ante el daño o la lesión en las células y tejidos vascularizados. Esta respuesta puede ser desencadenada por patógenos bacterianos u otros agentes agresores, ya sean de origen químico, biológico, o físico. La inflamación es una respuesta normal, aunque dolorosa, de reparación del tejido dañado, la cual incluye un gran gasto de energía metabólica. Sin embargo, puede tornarse a una condición crónica que se manifiesta en enfermedades degenerativas como artritis, enfermedades cardiovasculares, enfermedad inflamatoria intestinal o incluso cáncer.²⁸

La respuesta inflamatoria se desencadena por la respuesta de diferentes mediadores, es necesario agrupar esas respuestas en categorías funcionales y distinguirlas entre inductores y mediadores de la inflamatoria. Las señales que inician el proceso inflamatorio son los inductores, las cuales activan sensores que permite la producción de lotes específicos de mediadores. Estos a su vez, modifican los estados funcionales de células, tejidos y órganos, que son los efectores de la inflamación, de manera que permite primero su adaptación y posteriormente su reparación, del daño producido por el inductor.²⁸

2.4.1. Fisiopatología

La inflamación es la reacción inicial e inesperada del cuerpo ante diferentes estímulos. Es una respuesta rápida y controlada tanto a nivel celular como

molecular. Esta respuesta se desencadena por la activación de células especializadas llamadas fagocitos y células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos. Además, se activan diferentes mecanismos moleculares, como las cininas, la cascada de coagulación y fibrinólisis.²⁹

Cuando ocurre la lesión, las células del sistema inmunológico liberan sustancias químicas como histamina y citocinas, los cuales producen la dilatación de los vasos sanguíneos, incremento de la permeabilidad vascular e hipercoagulabilidad. La vasodilatación y el aumento de la permeabilidad vascular en el área inflamada tienen como resultado un mayor suministro de nutrientes y oxígeno en esa zona, lo que causa calor, hinchazón y acumulación de líquido en los tejidos, conocido como edema tisular. Estos cambios en la circulación sanguínea son responsables de los cuatro síntomas clásicos asociados a la inflamación local: enrojecimiento de la piel (eritema), hinchazón (edema), aumento de la temperatura y dolor.²⁹

2.4.2. Mediadores de la respuesta inflamatoria

Las reacciones inmediatas que ocurren después de una lesión y que buscan restablecer el equilibrio del organismo se conocen como fenómeno inflamatorio. Estas reacciones comienzan en el lugar de la lesión, pero a través de mediadores, también desencadenan una respuesta generalizada en todo el cuerpo.²⁹

Mediadores genéricos

Citocinas: Los macrófagos pueden activarse tanto por la agregación plaquetaria como por los productos bacterianos, como las endotoxinas. Esta activación de los macrófagos desencadena la producción de citocinas, que son los mediadores más importantes en el inicio de la respuesta inmunológica e inflamatoria. El factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina-1 (IL-1) desempeñan un papel clave en el inicio de estas respuestas.²⁹

Además de las citocinas, la propia agresión y la presencia de TNF y IL-1 estimulan una respuesta celular intensa, que incluye la liberación de otros mediadores como citocinas adicionales, eicosanoides, factor activador de plaquetas y óxido nítrico. Estos mediadores adicionales amplifican y regulan la respuesta inflamatoria y la respuesta inmunológica.²⁹

Eicosanoides. Son originados por la oxidación parcial del ácido araquidónico, entre los eicosanoides se incluyen a las prostaglandinas, leucotrienos, lipoxinas, ácido hidroxieicosatetranoico y epóxidos.²⁵

La liberación de ácido araquidónico a partir de la fosfolipasa A₂, fosfolipasa C o fosfolipina A (fosfolípidos de la membrana), limita la producción de eicosanoides.²⁹

El metabolismo del ácido araquidónico se produce por dos vías, por la vía de las lipooxigenasas que permite la formación de leucotrienos (LTA₄, LTB₄, 5-HETE, LTC₄, LTE₄ y lipoxinas), y la vía de la ciclooxigenasa que permite la formación de las prostaglandinas (PG₁₂, PGD₂, PGE₂, PGF₂) y tromboxano (TXA₂).²⁹

2.4.3. Fármacos utilizados en la inflamación

Aunque algunos fármacos tienen ciertas propiedades antiinflamatorias, solamente se consideran antiinflamatorios dos grandes grupos de fármacos: Los antiinflamatorios esteroideos y los antiinflamatorios no esteroideos.³⁰

a) Antiinflamatorios esteroideos

Dentro de este grupo se encuentran los glucocorticoides, que además de presentar actividad antiinflamatoria, también son antialérgicas, inmunosupresoras y analgésicas. Son fármacos derivados del cortisol, hormona producida por la corteza adrenal esencial para la adaptación al estrés físico o emocional. El uso del glucocorticoide para inhibir el proceso inflamatorio resulta de gran uso clínico.²⁶

Mecanismo de acción

Los glucocorticoides actúan modificando la síntesis de proteínas en los tejidos sobre los que ejercen su acción, debido a que se unen a receptores intracitoplasmáticos que regulan la expresión genética, la lenta manifestación de sus efectos se debe sobre todo al tiempo necesario para que la célula ponga en marcha sus mecanismos de síntesis de proteínas. Los receptores se dividen en mineralocorticoides y glucocorticoides.³⁰

La fosfolipasa A₂ se activa al ocurrir una agresión en los tejidos, e hidroliza los enlaces tipo éster de fosfolípidos de la membrana celular, con la consiguiente liberación de ácido araquidónico. Los corticoides inhiben a la fosfolipasa A₂, lo que impide la liberación de ácido araquidónico.³¹

Dexametasona

Es un corticoide fluorado, de larga duración y elevada potencia antiinflamatoria e inmunosupresora. Atraviesa con facilidad la barrera hematoencefálica por lo que es apropiado para tratar edemas cerebrales.^{32,33}

La dexametasona presenta una acción prolongada, manteniendo sus efectos por 72 horas. Tiene una biodisponibilidad de 50 – 80 %, absorbiéndose ampliamente en el sistema gastrointestinal. Tiene un grado de unión a proteínas plasmáticas de

70 %. Se metaboliza en el hígado, mediante reacciones de hidroxilación y posteriormente por conjugación con ácido glucurónico y sulfatos. Se elimina principalmente por la orina, en un 8 % en forma inalterada, tiene una vida media de eliminación de 3 – 4 horas.^{32,33}

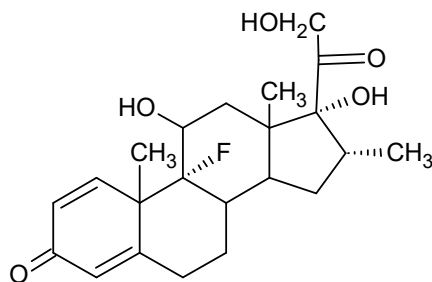


Figura 3. Estructura química de la dexametasona.³³
(9-Fluoro-11 β ,17,21-trihidroxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona)

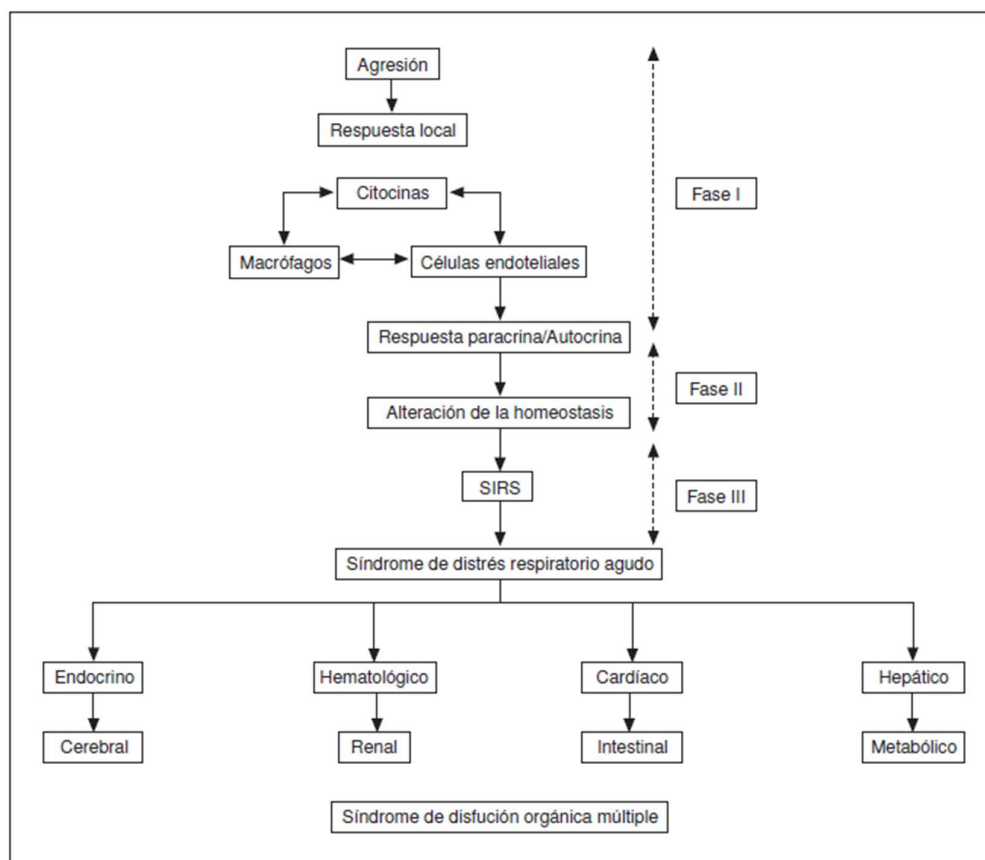


Figura 4. Proceso secuencial de la inflamación.²⁹

b) Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, son un conjunto de fármacos que tienen la capacidad de reducir la inflamación, la fiebre y aliviar el dolor. Estos medicamentos se utilizan para controlar los síntomas causados por la inflamación, pero no tratan la causa subyacente de la enfermedad ni alteran su curso. Además, también tienen propiedades analgésicas, antipiréticas, antiagregantes plaquetarios y antitrombóticas.^{31,28}

Mecanismo de acción

Las prostaglandinas son sintetizadas a partir del ácido araquidónico por acción de la enzima ciclooxigenasa. Existen dos tipos de la enzima ciclooxigenasa que son ciclooxigenasa -1 y la ciclooxigenasa -2. La primera se manifiesta en forma natural en las células, mientras que la ciclooxigenasa-2 se presenta en forma inducida y transitoria en células que son estimuladas, produciendo mediadores de la inflamación.²⁷

Los AINES producen su acción antiinflamatoria inhibiendo a las COX-2 en el lugar de la inflamación, de manera que oxida al ácido araquidónico y retrasa la síntesis de prostaglandinas. Sin embargo, estos compuestos son capaces de bloquear a la COX-1 en los tejidos gastrointestinales y renales, lo que genera efectos perjudiciales.^{27,35}

Reacciones adversas

Las reacciones adversas comunes de los AINES, incluyen dolores abdominales, sangrado, estreñimiento, diarrea, dispepsia, aumento de riesgo de hemorragias, trombocitopenia, síndrome nefrótico, oliguria, anemia, agranulocitosis, insuficiencia hepática, entre otros. Para reducir las posibles reacciones adversas, se debe utilizar la menor dosis durante el tiempo más corto posible, además la edad puede correlacionarse con la aparición de las reacciones adversas más graves, teniendo precaución de elegir las dosis más bajas en adultos mayores.³²

Diclofenaco.

Es un derivado del ácido fenilacético, se encuentra entre los AINES con mayor uso. El diclofenaco es un analgésico, antipirético y antiinflamatorio. Presenta una potencia mucho mayor que otros AINES, presenta una alta selectividad para la COX-2.³²

El diclofenaco presenta una rápida absorción, una elevada unión a proteínas y un

tiempo de vida media de 1 – 2 horas, lo que hace que se necesite administrar dosis más altas, para tener una inhibición sostenida de la COX. Presenta un efecto del primer paso, haciendo que solo el 50 % del diclofenaco absorbido se encuentre disponible sistémicamente. El diclofenaco se metaboliza en el hígado por intervención de CYP2C hasta 4-hidroidilofenaco y a otras formas hidroxiladas, después por glucuronidación y sulfatación, finalmente los metabolitos se excretan por la orina (65 %) y bilis (35 %).³²

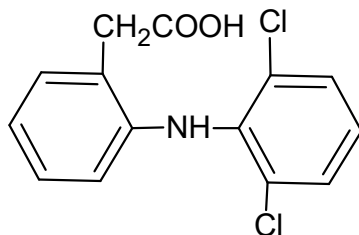


Figura 5. Estructura química del diclofenaco.³²
(Ácido 2-[(2,6-diclorofenil) amino] bencenoacético)

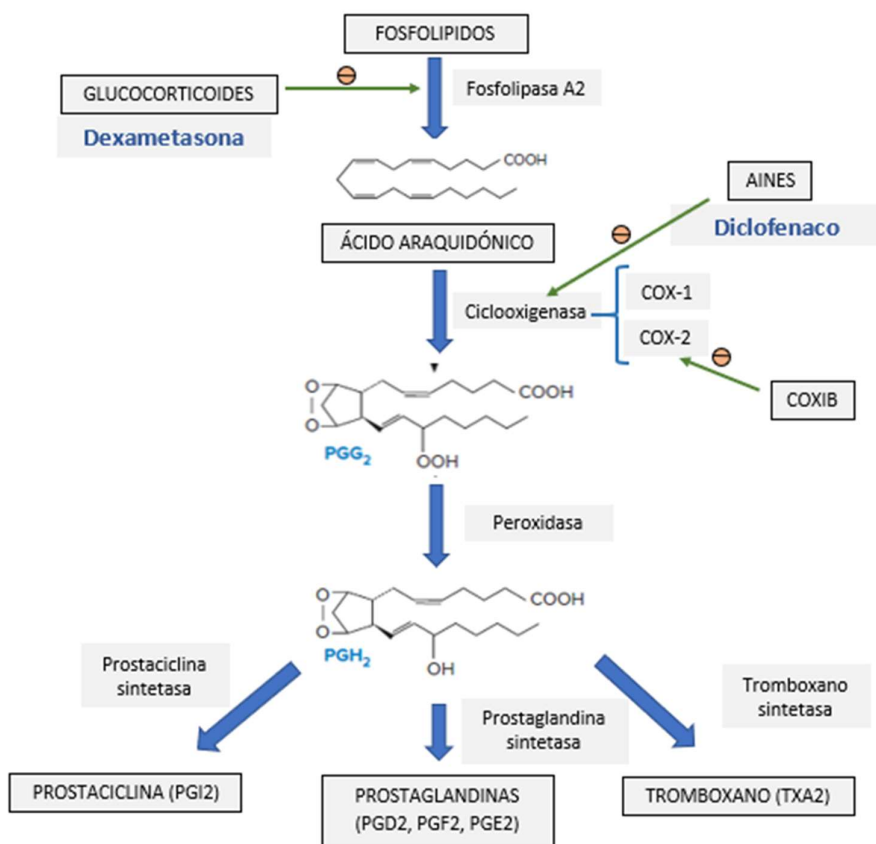


Figura 6. Mecanismo de acción de los antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos.³⁴

2.5. Radicales libres

Un radical libre es una molécula que tiene un electrón desapareado en su orbital externo. Estos radicales son altamente reactivos y pueden ser generados internamente en el cuerpo a través de procesos metabólicos como la respiración, la actividad de fagocitos, la oxidación de compuestos carbonados y el catabolismo de ciertas enzimas. En un sistema saludable, el metabolismo aeróbico produce radicales libres que tienen la tendencia de capturar electrones de otros átomos para llegar a tener una estabilidad electroquímica. La molécula que perdió el electrón se oxida y se convierte en un nuevo radical libre al presentar un electrón desapareado, produciéndose una reacción en cadena muy dañina para el organismo.²⁵ Los radicales libres no presentan receptores, actúan atacando a células y tejidos vivos.

Por acción de nuestro metabolismo, se producen diversos radicales libres, como las especies reactivas de oxígeno (ERO) que incluyen el anión superóxido, el anión peróxido, el radical perhidroxilo y el radical hidroxilo. También existen las especies reactivas de nitrógeno (ERN), como el óxido nítrico y el radical peroxinitrito. Estas especies reactivas tienen su principal origen en las mitocondrias, lisosomas, peroxisomas, citoplasma. Los radicales libres también pueden ser originados por fuentes externas, como la radiación, contaminación, la luz solar, el ozono, las drogas, el tabaco, la medicación, conservantes y algunos compuestos extraños al organismo, llamados xenobióticos, como pesticidas, herbicidas y fungicidas. Estas fuentes externas pueden contribuir a la producción de radicales libres en el cuerpo y aumentar el estrés oxidativo.^{36,37}

2.5.1. Estrés oxidativo

En condiciones normales del organismo, se activan varios mecanismos antioxidantes para neutralizar las especies reactivas de oxígeno (ERO) y prevenir el daño oxidativo. Estos mecanismos incluyen la producción de enzimas antioxidantes como el superóxido dismutasa, la catalasa, el glutatión peroxidasa, entre otras. Estas enzimas desempeñan un papel importante al eliminar los radicales libres y proteger a las células y tejidos del estrés oxidativo. Cuando la producción de sustancias altamente reactivas como son los radicales libres, supera la capacidad de las sustancias antioxidantes de neutralizarlas, se produce

el estrés oxidativo. Esto puede ocurrir debido a la disminución de los niveles de defensas antioxidantes celulares, el aumento en la velocidad de producción de especies reactivas o, en ocasiones, una combinación de ambos factores. Afectando en forma considerable a las biomoléculas como las proteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos y provocando daños celulares, la cual se relaciona con la aparición de numerosas patologías como: envejecimiento, cáncer, diabetes, problemas gástricas y óseas, enfermedades cardiovasculares, daño inmunológico y otras enfermedades crónicas.^{36,37}

2.5.2. Daño a biomoléculas por radicales libres

Se reconoce que los radicales libres participan en la destrucción de agentes patógenos como resultado de la fagocitosis, sin embargo, también representan un riesgo, principalmente para las células y las biomoléculas. En el ADN se puede formar el radical peróxido, cuando el oxígeno se adhiere a sus bases nitrogenadas, lo cual resulta en la manifestación de mutaciones y daños estructurales, con pérdida de la expresión o síntesis de una proteína por el daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteína, reordenamiento cromosómico. Los principales aminoácidos que se ven afectados de sufrir un proceso oxidativo son la metionina, cisteína, tirosina, triptófano, fenilalanina e histidina, produciéndose un cambio conformacional de la proteína y como resultado la modificación de sus funciones biológicas y su desnaturalización. Los lípidos son muy propensos de sufrir procesos de oxidación no controlada, conocido como peroxidación lipídica. El cual afecta los gradientes iónicos en la membrana celular, alterando la permeabilidad de la membrana, permitiendo la entrada o salida no deseada de sustancias, y como consecuencia, se produce edema y muerte celular.²⁹ Una vez que se inicia el proceso de peroxidación lipídica, se desencadena una cascada de reacciones en la cual se manifiestan los radicales libres, estos radicales libres formados presentan efectos citotóxicos, que dañan y causan la muerte celular.^{36,38}

2.5.3. Antioxidantes

Son moléculas capaces de retrasar o prevenir la oxidación de un sustrato que es susceptible a la oxidación. Esto se logra mediante la captación de radicales libres, actuando como donador de electrones o agentes reductores. Además, las moléculas antioxidantes pueden estabilizar los hidroperóxidos o inactivar el oxígeno singlete, que son especies reactivas y potencialmente dañinas. Los

radicales libres pueden aparecer como subproductos en todos los organismos vivos que usan el oxígeno como productor de energía, y los cuales son perjudiciales para la vida, a menos que existan mecanismos de defensa en las células que los neutralicen. Estos mecanismos de defensa se conocen como antioxidantes.^{39,40} Para que los antioxidantes (AH), presenten una actividad antirradicalaria debe permitir la generación de un radical más estable y menos dañino (RH), después que reaccione con la especie radical (R), esta reacción se basa en la donación de un electrón a la especie radicalaria. Teniendo finalmente como la formación de un radical derivado del antioxidante (A) que presenta característica inerte y estable.⁴¹

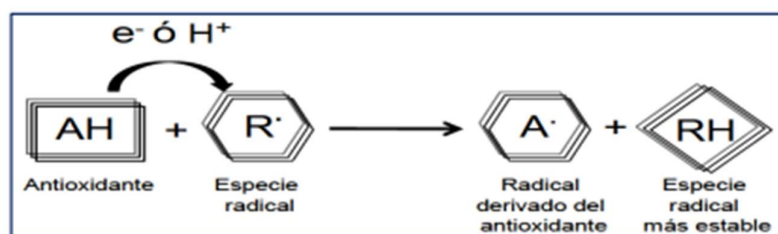


Figura 7. Mecanismo antirradicalaria de los antioxidantes.⁴¹

Los seres vivos pueden adquirir los compuestos antioxidantes a través de la dieta que ingiere y mediante propia síntesis en el organismo; en esta razón denominamos antioxidantes endógenos aquellas sustancias que son producidas por las células y antioxidante exógeno las cuales son adquiridas en la dieta. Dentro de los antioxidantes endógenos se encuentran las enzimas superóxido dimutasa, glutatión peroxidasa, tiorredoxina, peroxirredoxina, catalasa, glutatión reductasa, glutarredoxina y tiorredoxina reductasa, y entre los no enzimáticos se encuentran el glutatión, mioglobina, ferritina, metalotioneínas, poliaminas y CoQ. Mientras que los antioxidantes exógenos son adquiridos por la ingesta de frutas y verduras, en este grupo se incluyen a los polifenoles, carotenoides, algunas vitaminas, elementos trazas, etc. los cuales son ampliamente estudiadas en el campo alimenticio y medicinal.⁴⁰

Entre las técnicas utilizadas para evaluar la capacidad antioxidante de algún compuesto es el secuestro de radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). El DPPH es un radical libre y estable, que posee una fuerte tonalidad violeta el cual en presencia de un compuesto antioxidante torna un color amarillo, quien es el donador de un átomo de hidrogeno. La reacción de reducción del DPPH se expresa de la siguiente manera.^{42,43}

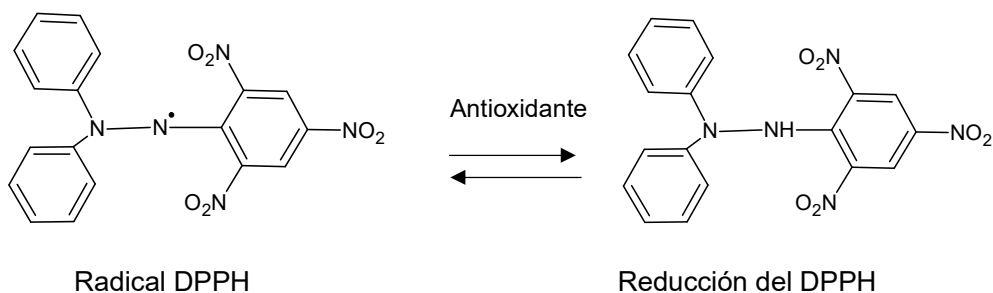


Figura 8. Reacción del radical DPPH con un antioxidante.⁴³

Mientras que la otra metodología utilizada para la determinar la capacidad antioxidante de un compuesto, es el secuestro del radical catión de ácido 2,2' – azinobis – (3 – atilbenzotiazolina) – 6 – sulfónico (ABTS⁺), el cual se fundamenta en la generación del radical ABTS⁺ a partir de su precursor. El radical ABTS⁺ presenta una coloración verde azulado, con absorción en el espectro ultravioleta-visible a 414, 645, 734 y 815 nm. Cuando se añade la muestra antioxidante a analizar la coloración de la reacción desciende a medida que lo hace la concentración del radical catiónico ABTS⁺, midiéndose la reducción de la absorbancia producida.^{42,43}

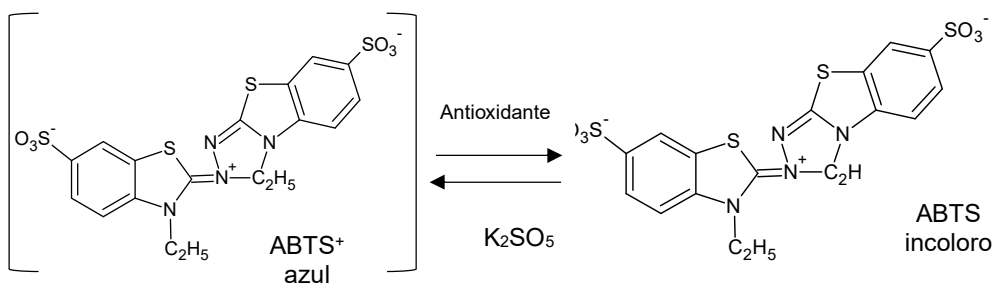


Figura 9. Reacción de radical catiónico ABTS con un antioxidante.⁴³

Ambas metodologías utilizan como patrón al Trolox, el cual es un análogo sintético hidrofílico de la vitamina E y un agente que secuestra radicales libres.⁴¹⁻⁴³

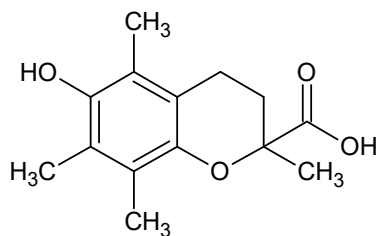


Figura 10. Estructura química del Trolox
(Ácido 6 hidroxí-2,5,7,8 tetrametilcromano-2-carboxílico)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Laboratorios de la E.P. de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Población y muestras

3.2.1. Población

Tubérculos de la variedad “mashua negra” de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. cultivadas en la región de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

Dos kilogramos de tubérculos de la variedad “mashua negra” de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. el muestreo se realizó por conveniencia.

a. Criterio de inclusión:

- Tubérculos en buen estado, sin presencia de contaminantes.

b. Criterio de exclusión:

- Tubérculos maltratados, descompuestos, o con presencia de contaminantes.

3.3. Metodología y recolección de datos

Fue realizado en seis fases

- Recolección e identificación taxonómica de las muestras.
- Preparación de las muestras.
- Obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado.
- Identificación de los metabolitos secundarios.
- Determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*.

- Determinación de la actividad antioxidante *in vitro*.

3.3.1. Recolección e identificación taxonómica de las muestras.

Las muestras se obtuvieron muestras en la región de Ayacucho, asegurándose de que los tubérculos estuvieran en condiciones óptimas. Luego, se procedió a limpiarlas, desinfectarlas, secarlas y guardarlas en bolsas de tela.

Las muestras recolectadas fueron clasificadas taxonómicamente (Anexo 1) y además se identificó la variedad en estudio (Anexo 2).

3.3.2. Preparación de las muestras

Dos kg de tubérculos de la variedad “mashua negra” de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. fueron limpiados, desinfectados y cortados hasta obtener láminas finas, luego ser llevaron a la estufa a 45 °C por 3 días hasta desecación. Finalmente, las muestras fueron molidas hasta trituración completa y almacenadas en un envase translúcido.¹¹

3.3.3. Obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado.

Según Riojas¹¹, la obtención del extracto hidroalcohólico fue realizado bajo el siguiente procedimiento:

- La muestra seca y pulverizada de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”, fue pesada y sometida a extracción con alcohol al 70 %, en una proporción de 1 en 10, posteriormente se sometió a maceración a temperatura ambiente por siete días, agitando periódicamente.¹¹
- El extracto hidroalcohólico fue filtrado y concentrado en baño María a temperatura menor de 45 °C hasta evaporación del solvente, posteriormente, fueron puestos en la estufa a temperatura de 40 °C hasta sequedad completa.¹¹
- Finalmente, el extracto hidroalcohólico obtenido fue llevado al liofilizador Daihan Scientific, para lo cual se tuvo que mezclar previamente con maltodextrina, para luego ser congelado a - 60 °C por 24 horas y finalmente sublimado a -80 °C por 48 horas a fin de obtener el extracto seco liofilizado.

3.3.4. Identificación de los metabolitos secundarios.

Fueron determinados por el tamizaje fitoquímico propuesto por Miranda.⁴⁴

Taninos y/o fenoles

- **Ensayo del cloruro férrico (FeCl_3):** A una alícuota del extracto en solución se le añadió tres gotas de FeCl_3 5 %. El ensayo resulto positivo por la aparición de una coloración rojo oscuro.

Flavonoides

- **Ensayo de Shinoda:** Se agregó 1 mL de ácido clorhídrico concentrado a una porción del extracto diluido, posteriormente se adicionó un trozo de cinta de magnesio. Se agitó bien y se dejó reposar. La prueba se consideró exitosa si se observaba una coloración rojo guinda.

Alcaloides

Se preparó la muestra para realizar el ensayo, colocando sobre una alícuota del extracto en solución, 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua, hasta formar una solución acuosa ácida.

- **Ensayo de Dragendorff:** A la solución ácida antes preparada colocar tres gotas de reactivo Dragendorff. Se consideró positivo por la aparición de una turbidez definida.
- **Ensayo de Mayer:** A la solución ácida añadir una pizca de cloruro de sodio en polvo, agitar y filtrar. Añadir tres gotas de reactivo Mayer. El ensayo se consideró positivo por la aparición de opalescencia.
- **Ensayo de Wagner:** A la solución ácida, añadir tres gotas de reactivo Wagner, fue positiva por la aparición de turbidez definida.

Azúcares reductores

- **Ensayo de Fehling.** Se disolvió una alícuota del extracto con 2 mL de agua, se añadió 2 mL de reactivo Fehling y fue calentado en baño maría por 5 minutos. El ensayo se considera positivo por la aparición de una coloración roja.
- **Ensayo de Benedict.** 2 mL de agua fueron añadidos a una porción del extracto, luego se añadió 2 mL de reactivo Benedict y fue calentado en baño maría por 5 minutos. El ensayo fue considerado positivo por la aparición de una coloración verde, el cual significa pequeña cantidad de azúcares reductores.

Cumarinas

- **Ensayo de Baljet.** Se añadió 1 mL del reactivo Baljet (compuesto por NaOH al 10 % y ácido pícrico al 1 % en etanol) a una porción del extracto. La prueba se consideró exitosa si se presentaba una coloración roja oscura.

Saponinas

- **Ensayo de espuma.** Se mezcló una porción del extracto con una cantidad de agua equivalente a cinco veces su volumen, y se movió vigorosamente durante cinco minutos. El resultado del ensayo fue positivo, ya que se observó la formación de espuma en la superficie del líquido durante más de dos minutos.

Catequinas

- **Ensayo de catequinas.** Se utilizó un capilar para recolectar una gota del extracto en solución, la cual se aplicó sobre un papel filtro. Luego, se agregó una solución de carbonato de sodio sobre la mancha y se dejó secar. Al observar la mancha bajo luz ultravioleta, se pudo apreciar una coloración verde carmelita, lo cual indica un resultado positivo para la prueba.

Aminoácidos

- **Ensayo de ninhidrina.** Se añadió 2 mL de solución de ninhidrina al 2 %, en una porción del extracto en solución, se calentó la mezcla por 5 minutos en baño de agua hirviendo. El ensayo fue positivo por la formación de un color azul violeta.

3.3.5. Determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*

Fue demostrado utilizando la metodología de estabilización de la membrana de eritrocitos humanos.

3.3.5.1. Preparación de la suspensión de eritrocitos

Se extrajeron 4 mL de sangre humana de un voluntario sano mediante una punción venosa. El voluntario no consumió ningún antiinflamatorio ni esteroideo ni corticoide en los 14 días previos al ensayo. A la sangre se le adiciono una cantidad igual de reactivo Alsever® (Sigma Aldrich), y centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. El empaquetado celular resultantes fue lavado con suero fisiológico al 0,9 % hasta que no queden rastros de suero en el paquete globular. Finalmente, se preparó una suspensión de eritrocitos a concentración de 10 % con suero fisiológico.^{14,45-47}

3.3.5.2. Preparación de la muestra problema y estándares

Se preparó soluciones del extracto a concentraciones de 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 y 3,0 mg/mL en agua estéril.¹⁴ y estándares de referencia a concentración de 1,0 mg/mL de diclofenaco sódico 75 mg/3 mL solución inyectable, de DIPHASAC S.A.C, y dexametasona sodio fosfato 4 mg/2 mL solución inyectable, de la Droguería Corporación Farmasalud E.I.R.L.^{11,45-47}

3.3.5.3. Estandarización del método de estabilización de la membrana de eritrocitos humanos

Tabla 3. Estandarización del método de estabilización de la membrana de eritrocitos humanos.

Reactivos	Blanco	Ensayos				
		1	2	3	4	5
Agua estéril	2	2	2	2	2	2
Buffer salino (pH=7,4)	1	1	0,75	0,5	0,25	0
Buffer en agua (pH=7,4)	0	0	0,25	0,5	0,75	1
Solución salina 0,9 %	1,5	1	1	1	1	1
Suspensión de eritrocitos	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Por un tiempo de 30 minutos fueron incubadas las mezclas en baño maría a 37 °C, para después ser centrifugadas a 3000 rpm por cinco minutos. Por último, se determinó su absorbancia a 560 nm, se trabajó por triplicado.^{14,45-47}

3.3.5.4. Procedimientos con las muestras en estudio

Tabla 4. Método de estabilización de la membrana de eritrocitos humanos

Reactivos	Blanco	Ensayos		
		Control	Estándar	Muestra problema
Agua destilada	2	2	1	1
Muestra	0	0	1	1
Buffer salino (pH=7,4)	0,5	0,5	0,5	0,5
Buffer en agua (pH=7,4)	0,5	0,5	0,5	0,5
Solución salina 0,9 %	1,5	1	1	1
Suspensión de eritrocitos	0	0,5	0,5	0,5

Por un tiempo de 30 minutos fueron incubadas las mezclas en baño María a 37 °C, para después ser centrifugadas a 3000 rpm por cinco minutos. Por último, se determinó su absorbancia a 560 nm, se trabajó por triplicado.^{14,45-47}

El porcentaje de protección de membrana se calculó con la siguiente ecuación:^{14,46,47}

$$\text{Protección (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\text{Abs muestra}}{\text{Abs control}} \right) \times 100 \right]$$

Donde:

Abs muestra = Absorbancia de la muestra.

Abs control = Absorbancia del control.

Esta ecuación muestra la conexión entre las absorbancias hemolíticas de las pruebas y del patrón de control. Se considera que el control provoca una lisis del 100 %, y se utiliza como punto de referencia para determinar el porcentaje de eritrocitos lisados. A partir de esta diferencia, se determina el porcentaje de eritrocitos no lisados, que simboliza la actividad de protección.

3.3.6. Determinación de la actividad antioxidante *in vitro*

Para el ensayo se prepararon concentraciones del extracto a 0,5; 1,0 y 3,0 mg/mL en agua.

3.3.6.1. Método de secuestro de radical libre 1,1 – difenil – 2 – picrilhidrazilo (DPPH)

Procedimiento

Se preparó una solución patrón (SP), pesando 24 mg de reactivo DPPH, la cual fue disuelta en 100 mL en metanol, y almacenadas en refrigeración. La solución de trabajo (ST) se obtuvo mezclando 10 mL de SP y 45 mL de metanol, se realizó la lectura a 517 nm, ajustando la absorbancia a $1,1 \pm 0,02$ con metanol.^{11,42}

Para la curva de calibración se pesó 12,5 mg de Trolox, para ser disuelta en 50 mL de metanol. De esta solución se midieron 0, 1, 2, 4, 6 y 8 mL y aforando hasta 10 mL con metanol, para obtener concentraciones de 25, 50, 100, 150 y 200 µg/mL, agitando por cinco minutos, y seguir como indica el procedimiento de la muestra.^{11,42,43}

Para la preparación de las muestras, se tomó 150 µL de cada concentración de extracto diluido, y se adicionó 2850 µL de ST, se mantuvo en reposo por 30 minutos en ausencia de luz y se determinó su absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro. Repetir la medición por triplicado.^{11,42}

Cálculos:

$$\%AA = \left[\frac{A_{DPPH} (A_{mp} - A_{Blanco})}{A_{DPPH}} \right] \times 100$$

Donde:

% AA: Porcentaje de la actividad antioxidante

A_{DPPH} : Absorbancia inicial de la solución de DPPH

A_{mp} : Absorbancia de la reacción de la muestra y DPPH.

A_{Blo} : Absorbancia del blanco.

3.3.6.2. Método reacción con radical 2,2' azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS)

Procedimiento

Solución 1: 40,6 mg de reactivo ABTS, se disolvió hasta 10 mL con agua destilada.^{11,42}

Solución 2: 7 mg de persulfato potásico ($K_2S_2O_8$), se disolvió hasta 10 mL con agua destilada.^{11,42}

Solución patrón (SP): se mezcló las soluciones 1 y 2, y se mantuvo durante 12

Solución de trabajo (ST): se mezcló 1 mL de la SP con 60 mL de metanol, se procedió con la lectura a 734 nm, ajustando la absorbancia a $1,1 \pm 0,02$ con metanol.^{11,42}

Para la curva de calibración se pesó 12,5 mg de Trolox, para ser disuelta en 50 mL de metanol. De esta solución se midieron 0; 0,5; 1; 2; 3 y 4 mL y aforando a 10 mL con metanol, para obtener concentraciones de 0; 12,5; 25; 50; 75 y 100 $\mu\text{g/mL}$, agitar por cinco minutos, y seguir como indica el procedimiento de la muestra.^{11,42,43}

Para la preparación de las muestras, se tomó 150 μL de cada concentración de extracto y se determinó su absorbancia a 734 nm. Repetir la medición por triplicado.¹¹

Cálculos:

$$\% \text{ AA} = \left[\frac{A_{ABTS} - (A_{mp} - A_{Blanco})}{A_{ABTS}} \right] \times 100$$

Donde:

% AA: Porcentaje de la actividad antioxidante

A_{ABTS} : Absorbancia inicial de la solución de ABTS

A_{mp} : Absorbancia de la reacción de la muestra y ABTS.

A_{Bio} : Absorbancia del blanco.

3.4. Tipo y diseño de investigación

3.4.1. Tipo de investigación

Básica – Experimental.

En base a lo planteado por Hernández *et al.*⁴⁰, la investigación es de tipo experimental, debido a que se produce una manipulación de la variable independiente (Concentración de los extractos utilizados) y la posterior medición de la variable dependiente (Actividad antiinflamatoria y antioxidante).

3.4.2. Diseño de investigación

Tipo experimental con posprueba únicamente y grupo control, que de manera simbólica se expresa de la siguiente manera:

RGc	---	Oc
RGst	Xst	Ost
RGv	Xv	Ov

Donde:

Gc: Grupo control

Gst: Grupo estándar

Gi: Grupo de investigación

Xst: Tratamiento del estándar

Xv: concentración del extracto para el estudio.

O: Observación

---: Ausencia de estímulo

3.5. Análisis de datos

Los resultados se presentaron en forma de tablas y figuras de barras, y fueron sometidos a análisis estadísticamente haciendo uso del programa estadístico SPSS (versión 29.0). Se calcularon las medias y desviaciones estándar. Las diferencias significativas entre los grupos se evaluaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel alfa del 95 %, y la prueba de post hoc de Tukey que determinar la similitud entre las medias de los grupos de investigación y los estándares.

IV. RESULTADOS

Tabla 5. Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Ayacucho 2023.

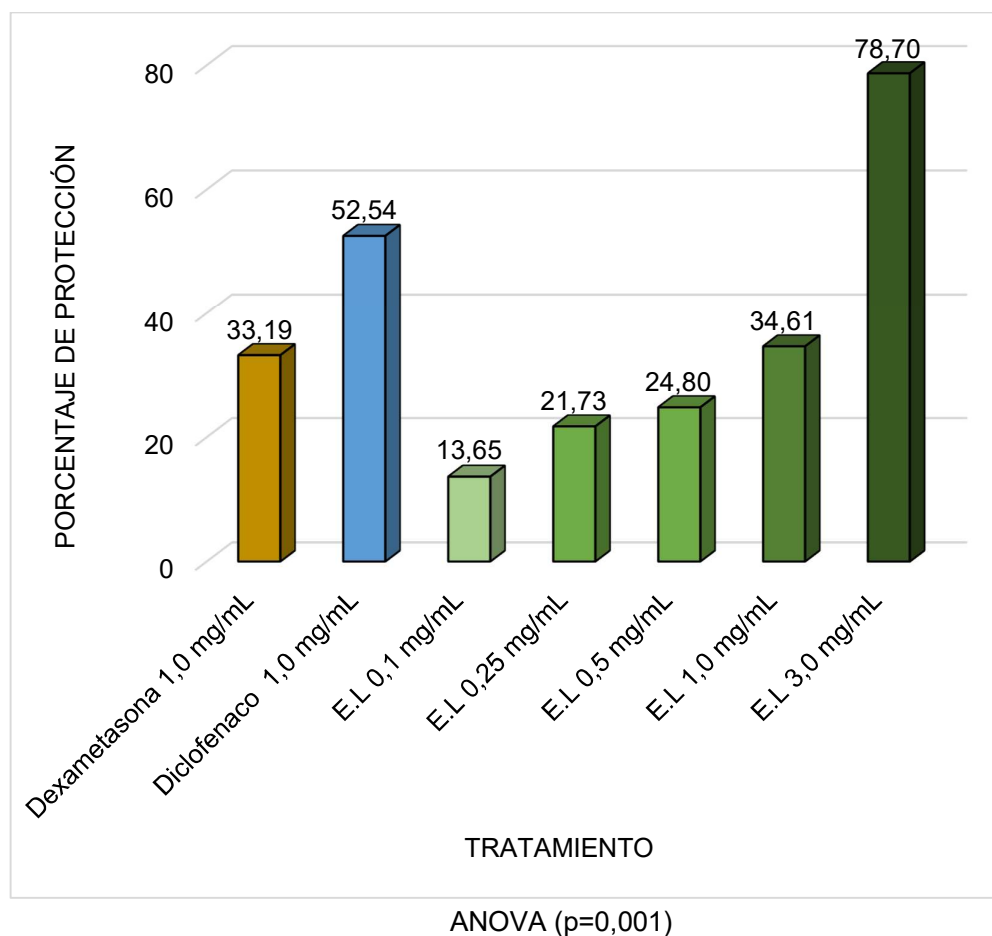
Metabolito secundario	Ensayo	Resultado	Observación
Compuestos fenólicos	FeCl ₃ 1 %	+++	Azul oscuro
Flavonoides	Shinoda	+++	Rojo guinda
	Dragendorff	++	Turbidez
Alcaloides	Mayer	+	Opalescencia
	Wagner	++	Turbidez
	Fehling	++	Coloración roja
Azúcares reductores			Coloración verde
	Benedict	+	
Cumarinas	Baljet	++	Coloración roja oscura
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma
Catequinas	Catequinas	++	Coloración Verde carmelita
Aminoácidos	Ninhidrina	+++	Coloración azul

Leyenda:

(+++) : Abundante cantidad

(++) : Regular cantidad

(+) : Poca cantidad



E.L.: Extracto liofilizado

Figura 11. Actividad antiinflamatoria expresado en porcentaje de protección de membrana de eritrocitos humanos del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Ayacucho 2023.

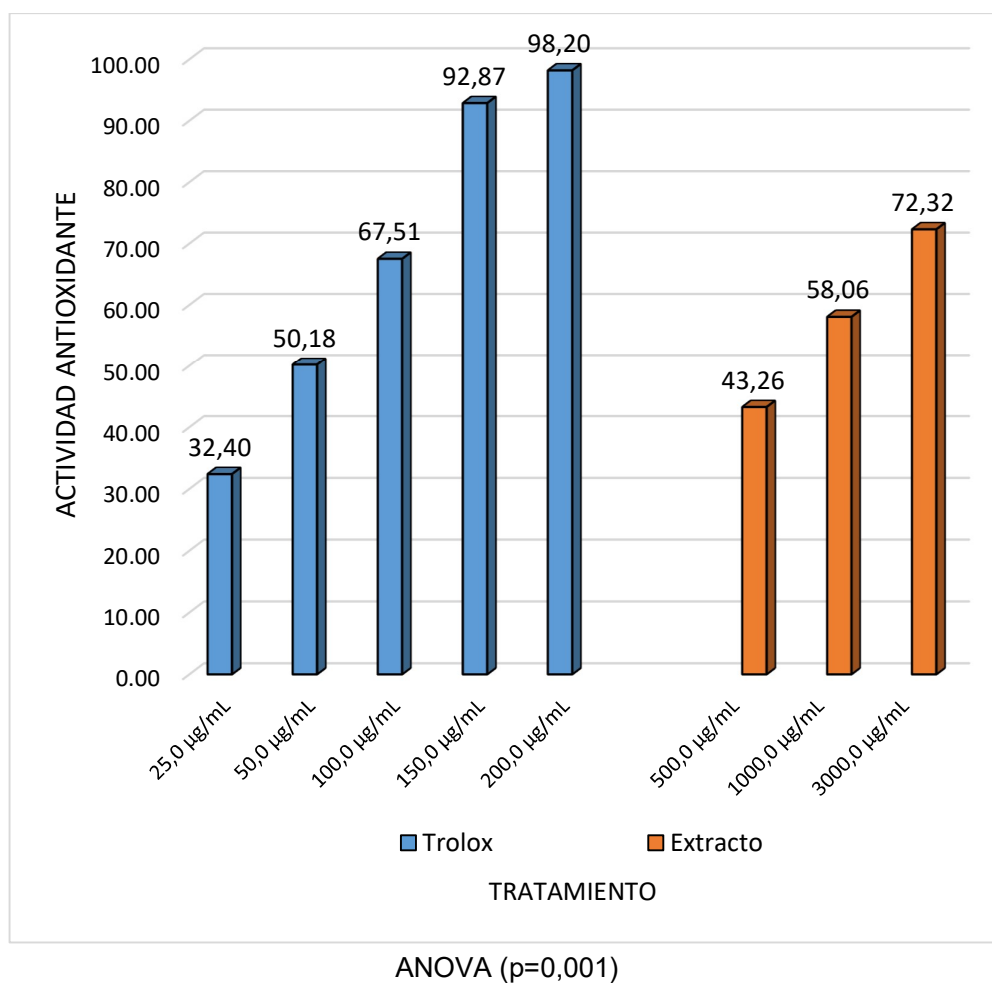


Figura 12. Porcentaje de la actividad antioxidante por el método DPPH del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Ayacucho 2023.

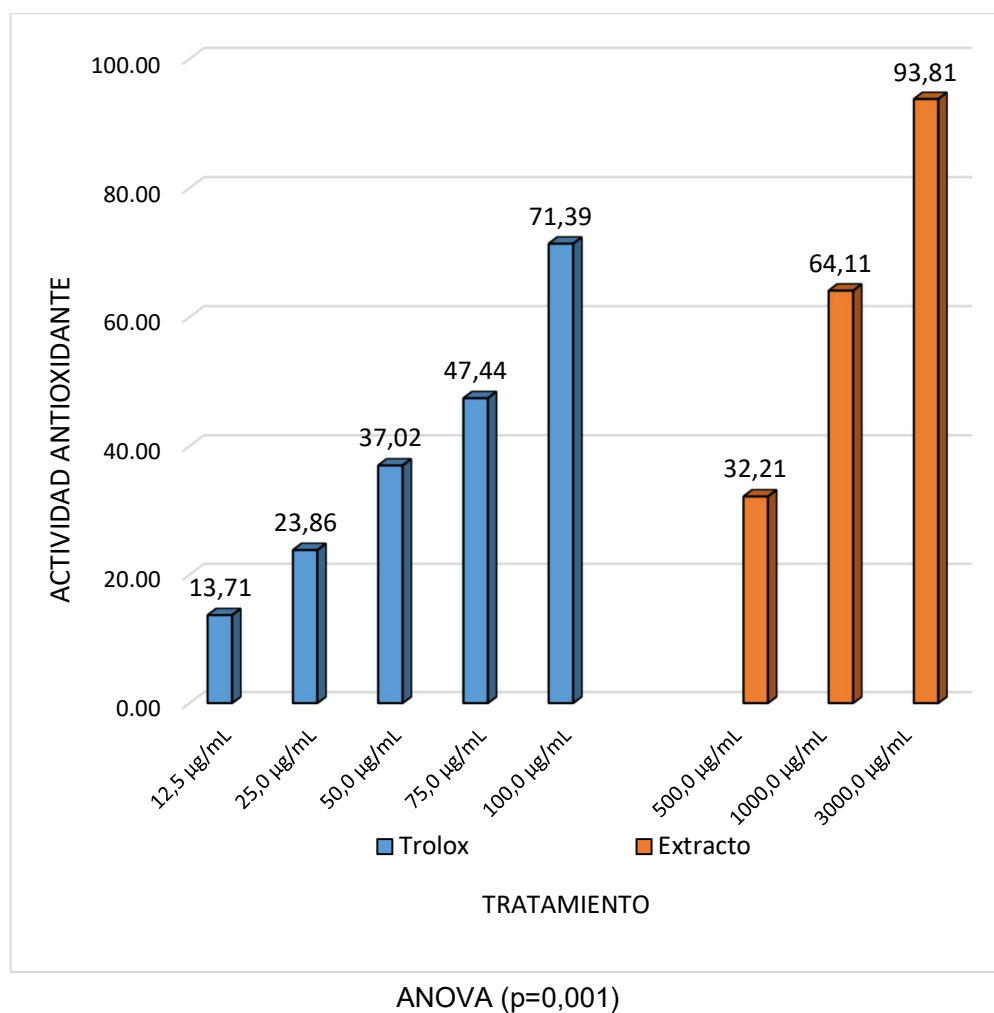


Figura 13. Porcentaje de la actividad antioxidante por el método ABTS del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Ayacucho 2023.

Tabla 6. Actividad antioxidante equivalente a trolox del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra” por el método DPPH y ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$ de muestra). Ayacucho 2023.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE ($\mu\text{mol TE/g}$ de muestra)		
Extracto liofilizado de	DPPH	ABTS
<i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”	157,07 $\pm$ 1,926	190,06 $\pm$ 1,714

V. DISCUSIÓN

Son diversas las propiedades que se le atribuyen a las mashua debido al alto valor alimenticio y medicinal de sus tubérculos, siendo utilizado desde las épocas pre-incaicas y del imperio incaico. De acuerdo a los conocimientos ancestrales, la mashua presenta una amplia aplicación en la medicina tradicional utilizándose para tratar enfermedades renales, como diurético, previene la inflamación de la próstata, también la anemia, además se le han atribuido propiedades antibióticas, nematocidas, excelente antioxidante, además de prevenir el envejecimiento.^{4,7,49} Flores *et al.*¹³, mencionan en su estudio que la población de adultos mayores de las provincias de Yunguyo, Chucuito y El Collao de la región de Puno, utilizan la mashua cultivada para prevenir la prostatitis, mientras que hacen referencias que la mashua silvestre es la que presenta las propiedades curativas. Mientras que Chirinos y Miramira⁵⁰, evaluaron la actividad hipoglucémica de la variedad negra y amarilla chaucha de la mashua en ratas Wistar. Mostrando que la variedad negra presenta actividad hipoglucemiante semejante al control positivo tratado con insulina glargina. Sin embargo, en las últimas décadas, la demanda de la mashua parece haber disminuido, debido a su menor presencia en los mercados de las ciudades. Pero aun, está disponible en pequeñas cantidades en los mercados rurales.⁴⁹ También en el estudio realizado por Aruquipa *et al.*⁵¹, mencionan que las propiedades nutricionales y medicinales de la mashua no son conocidas ni valoradas sobre todo por la población joven, su consumo más frecuente es por parte de las personas mayores que destaca estas propiedades. Por lo cual el desarrollo del presente trabajo pretende revalorar e impulsar el consumo de la mashua y darle mayor sustento científico a las propiedades medicinales que se le han reconocido.

El *Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón, manifiesta una gran variedad genética expresada en la diversidad de colores de sus tubérculos⁶, y la gran cantidad de

componentes bioactivos que presentan, como son los compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, carotenos y glucosinolatos.⁵² En la **Tabla 5**. Se presenta la identificación de los metabolitos secundarios en el extracto de la mashua negra, identificándose en forma cualitativa metabólicos como los Compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, saponinas, catequinas y aminoácidos. Vílchez⁵³, también identificó la presencia taninos, flavonoides, aminoácidos, alcaloides, al realizar el tamizaje fitoquímico en el extracto de mashua que se cultivó en cuatro lugares de la región Ayacucho. Destacándose sobre todo la identificación de los compuestos fenólicos y flavonoides, ya que son compuestos reconocidos por sus diversas propiedades en las que incluye su capacidad antioxidantes y antiinflamatorias, lo cual explicaría el uso en la medicina tradicional de plantas con alto potencial de contener estos bioactivos.⁴⁹ También mencionar que existe diferencias en cuanto a la abundancia de estos metabolitos según la variedad analizada. En la investigación de Feliciano *et al.*⁴⁴, hace referencia que las variedades morada y negra de la mashua presentan cantidades considerables de compuestos bioactivos en los que se incluyen los polifenoles, las antocianinas, los carotenoides, los glucosinolatos. Siendo estas las responsables de dotarle su capacidad antioxidante.

Una metodología importante para la determinación de la actividad antiinflamatoria de algún compuesto es la estabilización de la membrana de eritrocitos humanos, el cual se fundamenta en la utilización de una solución hipotónica como agente hemolítico, y mediante el cual se permite determinar la acción protectora que pueda tener la sustancia en análisis.¹¹ Se reconoce que la membrana de los eritrocitos es muy similar de la membrana lisosómica, siendo estas las afectadas en la reacción inflamatoria, iniciando desde esta idea, podemos extrapolar la protección de la membrana de los eritrocitos con la protección de la membrana lisosomal. Cuando ocurre algún daño en la membrana de los lisosomas, se libera la fosfolipasa A2, que origina la formación de mediadores de la inflamación en los macrófagos y neutrófilos, por hidrolizar a los fosfolípidos de la membrana, dentro de estos mediadores se incluyen a la histamina, prostaglandinas y leucotrienos, etc. Por lo tanto, la protección de la membrana impide la lisis y la expulsión del contenido citoplasmático, impidiendo en consecuencia el daño en los tejidos y el desarrollo de la inflamación. Entonces, los compuestos que pueden impedir la hemólisis también pueden proteger la membrana de los lisosomas.^{54,55}

En la **figura 11**, se presenta la actividad antiinflamatoria en porcentaje de protección de la membrana de eritrocitos humanos, por acción del extracto liofilizado de los tubérculos de la mashua negra a concentraciones de 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 y 3,0 mg/mL y los dos estándares de referencia que son la dexametasona y el diclofenaco ambas a concentración de 1,0 mg/mL. Se muestra que la concentración del extracto a 1,0 mg/mL presenta un porcentaje de protección de 34,61 %, inferior al estándar diclofenaco con 53,54 % de protección y superior al estándar dexametasona que registro un 33,19 % de protección, mientras que la concentración del extracto a 3,0 mg/mL, es la que registró el mayor porcentaje de protección con un 78,70 %. Por otro lado, las demás concentraciones del extracto evaluadas (0,1; 0,25 y 0,5 mg/mL), registraron valores inferiores de porcentaje de protección (13,65 %; 21,73 % y 24,61 %), de esta forma se entienda que según se incrementa la concentración de los extractos también se incrementa su actividad protectora de la membrana de los eritrocitos, estos resultado están en línea con lo mostrado, por Aguilar⁴⁸, debido que al incrementar la concentración de los compuesto fenólicos de *senecio rufescens* DC, también se incrementa la inhibición de la hemólisis de eritrocitos, alcanzado un 87,79 % de protección usando una dosis de 5 mg/mL, superior a los estándares dexametasona 1 mg/mL (56,81 %) y diclofenaco 1 mg/mL (61,96 %). De igual forma, Mendoza¹⁴, hace referencia en su estudio que la actividad inhibitoria de la hemólisis de eritrocitos es dependiente de la concentración del extracto, debido a que utilizando concentraciones inferiores a 5 mg/mL del extracto de quinua, no se lograba conseguir resultados protectores. Al realizar el análisis de varianza (**Anexo 22**), se determina que existe diferencia significativa entre los grupos ($p < 0,05$), y con la prueba post hoc de Tukey (**Anexo 23**) se registra que solo la concentración del extracto a 1,0 mg/mL, es estadísticamente semejante al estándar dexametasona. Como no se tiene registro de estudios fuera de un organismo vivo, que permita determinar el efecto antiinflamatoria de la mashua, no se puede realizar comparaciones, sin embargo, si se reportan estudios *in vivo*, como el de Ibarra⁵⁷, quien determinó en su investigación, que el extracto hidroalcohólico de la mashua a concentraciones de 1 % y 2,5 %, presentan a las cinco horas después de la inducción de inflamación en las ratas de prueba, una actividad antiinflamatoria de 95,0 % y 97,5 % respectivamente, similar al del estándar utilizado (97,3 %) que fue el diclofenaco al 1 %. De igual forma Jimenes *et al.*⁵⁸, determinaron mediante el mismo método *in vivo*, que la variedad rosa de la mashua a dosis de 500 mg/kg,

a la quinta hora de estudio, presenta una actividad antiinflamatoria comparable con la indometacina, con porcentajes de inhibición del edema, superiores al 50 %. Según estos antecedentes si bien se están utilizando otra metodología, en ambas se concluyen mencionando que la especie *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón, si presenta actividad antiinflamatoria, la cual puede ser superior o inferior de acuerdo a la variedad que se está evaluando y el contenido de componentes bioactivos, que le dotan de esta propiedad. Es así que Linares y Vicente⁵⁹, al evaluar la cantidad de polifenoles totales y su efecto antiinflamatoria, de las variedades roja y púrpura de la mashua, determinaron que la variedad roja es la que contiene mayor cantidad de polifenoles totales y por tanto mayor actividad antiinflamatoria, que la variedad púrpura, pudiendo afirmar que son los compuestos fenólicos los que le brindan su actividad antiinflamatoria, y esta aumenta al incrementar la cantidad de estos metabolitos secundarios.

La acción antiinflamatoria que presentan las plantas se debe al contenido de compuestos fenólicos, en especial los de tipo flavonoides, esta propiedad se atribuye en gran parte a su capacidad antioxidante al neutralizar los radicales libres y prevenir el estrés oxidativo, un factor clave en el proceso inflamatorio. También, actúan inhibiendo enzimas que promueven la producción de la inflamación, como la ciclooxigenasa-2, lipooxigenasa y fosfolipasa A2. Enzimas están involucradas en la producción de eicosanoides, moléculas que promueven la inflamación. Además, estos compuestos fenólicos pueden modular la respuesta inmune y la inflamación al interactuar con diferentes células como son los linfocitos y macrófagos, y modulando la actividad y producción citocinas, proteínas claves en la respuesta inflamatoria.^{60,61} Se ha reportado que los compuestos fenólicos pueden tener efecto inhibidor de ciertas citocinas proinflamatorias, como es el caso del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina-1 (IL-1) y la interleucina-6 (IL-6). Esto se cree que es parte de la razón por la cual los compuestos fenólicos pueden tener efectos antiinflamatorios. Además, promover la producción de citocinas antiinflamatorias como la interleucina-10 (IL-10), que también ayuda a reducir la inflamación.⁶²

Mientras que la determinación de la actividad antioxidante del extracto de los tubérculos de la mashua negra, fue realizado mediante dos metodologías, el método DPPH y el método de ABTS. El primero se basa en el secuestro del radical libre DPPH, este ensayo permite realizar la medición de la capacidad antioxidante

de algún compuesto, espectrofotométricamente y siguiendo la reducción de la absorbancia a 517 nm. El método se fundamenta en que el radical DPPH presenta un electrón desapareado, y cuya solución se presenta con una coloración azul-violeta, llegando a decolorarse hasta amarillo pálido en presencia de una sustancia antioxidante que es el donador de un átomo de hidrógeno.^{42,63}

La **figura 12**, muestra el porcentaje de actividad antioxidante del extracto liofilizado de los tubérculos de mashua negra utilizando la metodología de DPPH, registrando que la actividad antioxidante está en aumento, según se incrementa la concentración del extracto, siendo la concentración de 3,0 mg/mL la de mayor capacidad de captación del radical libre con un 72,32 %; en comparación con las concentraciones de 0,5 mg/mL y 1,0 mg/mL donde se obtuvo valores de 43,26 % y 58,06 % respectivamente. Además, en el **anexo 14**, se muestra la reacción positiva entre el radical DPPH y el compuesto antioxidante, con el cambio en la coloración inicial de azul-violeta hasta amarillo. En el análisis de varianza (**anexo 25**) se muestra una clara diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las medias evaluadas.

Mientras que la metodología de secuestro del radical catiónico ABTS, se basa en la reacción del radical $ABTS^+$ con un antioxidante presente en la muestra. La reacción entre el ABTS y el persulfato de potasio, como agente oxidante, produce la formación del radical catiónico $ABTS^+$, presentando un intenso color verde-azulado. En la reacción con un antioxidante, el radical $ABTS^+$ se reduce (gana electrones) y produce una disminución en su coloración, el cual puede ser medido espectrofotométricamente a una longitud de onda de 734 nm. La disminución en la absorbancia está relacionada con la capacidad antioxidante de la muestra.⁶⁴⁻⁶⁶

En la **figura 08**, se muestran los porcentajes de actividad antioxidante del extracto liofilizado, utilizando el método ABTS, siendo la concentración de 3,0 mg/mL la de mayor actividad, como en el método DPPH, obteniendo un valor de 93,81 %, bastante superior en comparación de las concentraciones de 0,5 mg/mL y 1,0 mg/mL los cuales obtuvieron valores de 32,21 % y 64,11 % respectivamente. Además, que en el **anexo 18**, se muestra la reacción positiva entre el antioxidante y el radical ABTS, de coloración inicial verde azulado, el cual va cediendo según se incrementa la concentración del extracto evaluado. Al realizar el análisis de varianza (**anexo 26**), se muestra diferencia significativa ($p < 0,05$), entre las medias evaluadas.

Finalmente, en la **tabla 6**, se presenta la actividad antioxidante del extracto liofilizado en unidades de equivalente Trolox, teniendo un valor de $157,07 \pm 1,926$ $\mu\text{mol TE/g}$ utilizando la técnica de DPPH, mientras que con la técnica ABTS se obtuvo un valor de $190,06 \pm 1,714$ $\mu\text{mol TE/g}$. Como se puede apreciar con la metodología ABTS, se obtiene mayor actividad antioxidante, esto se explica debido a que el ABTS permite apreciar antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos en la muestra, debido a que es soluble en medios orgánicos y acuosos.⁶⁷ Taipe²⁵, al estudiar las variedades amarillo zapallo y negra de la mashua, en estados fresco, soleado y cocido, hace énfasis que la variedad negra posee mayor actividad antioxidante en los tres estados evaluados, con valores de 109,24; 114,50 y 110,83 $\mu\text{mol TE/g}$ respectivamente, pero inferiores a los obtenidos en nuestros resultados. Mientras que la variedad amarillo zapallo, obtuvo resultados inferiores de 15,38; 20,83 y 19,46 $\mu\text{mol TE/g}$ también en los tres estados. Siendo la variedad negra es la que presenta una notable diferencia antioxidante en comparación de variedad amarilla zapallo, además se menciona que entre los tres valores obtenidos de cada variedad existe diferencia significativa ($p < 0,05$), indicando que la exposición al sol de los tubérculos afecta a su capacidad antioxidante, siendo este el de mayor valor. Mientras que en el trabajo presentado por Peñafiel y Castro⁵⁸, evaluaron el efecto antioxidante de la mashua negra recolectada en la región cusco, utilizando el método DPPH, el cual presentan un valor de 183,76 $\mu\text{mol TE/g}$ de extracto, y mediante el método ABTS fue de 1801 $\mu\text{mol TE/g}$ de extracto, ambos resultados fueron superiores a los reportados en nuestra investigación. La altitud de la región donde fueron cultivadas los tubérculos puede influencias su capacidad antioxidante, esta afirmación es demostrada por Anaya⁶⁹, quien cuantificó la cantidad de polifenoles totales y la actividad antioxidante de la mashua negra en tres altitudes en la región Huánuco, muestra que a altitud de 3463 msnm el extracto de mashua, presenta superior efecto antioxidante con un valor de 1562,67 $\mu\text{mol TE/g}$ de muestra, con el método DPPH y de 1069,48 $\mu\text{mol TE/g}$ de muestra con el método ABTS, para las otras altitudes evaluadas de 3814 y 4039 msnm los resultados fueron inferiores, y estos resultados están en relación a la cantidad de polifenoles cuantificados siendo el cultivo a altitud de 3463 msnm, la que registra mayor cantidad con 365,54 $\mu\text{g AGE/g}$ de muestra.

Varios estudios evidencian que los compuestos fenólicos cumplen una función como antioxidante mediante la restauración de enzimas antioxidantes, inhibir las oxidasas, que son enzimas que promueven la formación de radicales libres o

neutralizando especies reactivas de oxígeno, atenuando de esta forma el estrés oxidativo, condición que se asocia al desarrollo de diversas enfermedades incluyendo las inflamaciones. Por el alto potencial redox que presentan los compuestos fenólicos, al actuar como agentes reductores y donar electrones, se les considera como importantes antioxidantes.⁷⁰ Como se menciona en diferentes estudios y según nuestros resultados obtenidos, la mashua presenta buena actividad antioxidante esto se debe principalmente a los compuestos fenólicos identificados en el extracto, los cuales como componentes bioactivos, presentan diversas actividades entre las que se incluye su neta actividad antioxidante debido a su capacidad para secuestrar los radicales libres.⁴⁹

El presente trabajo pretende dar mayor sustento científico al uso médico que se le atribuye a la mashua, además de revalorar su consumo como producto de alto potencial nutricional y medicinal, debió a que su consumo en la actualidad se ha visto reducido drásticamente, sobre todo por desconocimiento de nuestra población más joven.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra” presentó actividad antiinflamatoria y antioxidante *in vitro*.
2. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra” fueron: compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, saponinas, catequinas y aminoácidos.
3. El extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra” presentó actividad antiinflamatoria expresada como protección de la membrana de eritrocitos, estadísticamente similar a la dexametasona a la concentración de 1 mg/mL y a 3 mg/mL fue superior al diclofenaco y dexametasona.
4. El extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra” presentó actividad antioxidante de 157,07 $\mu\text{mol TE/g}$ de muestra, con el método de radical DPPH y 190,06 $\mu\text{mol TE/g}$ de muestra, con el método de radical catión ABTS.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con los estudios *in vivo* en animales de investigación, evaluando tanto la actividad antiinflamatoria como la antioxidante, de tal forma que se permita reconocer los efectos fisiológicos de sus componentes bioactivos.
2. Continuar los estudios con otras variedades de la mashua, que permita caracterizar cuales presentan mayor potencial terapéutico.
3. Realizar preparados farmacéuticos a base de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua” de tal manera que sus propiedades medicinales sean mejor aprovechadas.
4. Incentivar y promover el consumo de la mashua sobre todo en la población más joven, ya que es una fuente importante en compuestos fenólicos, que permiten la prevención de múltiples enfermedades degenerativas, como son enfermedades cardíacas, diabetes, cáncer, Alzheimer, Parkinson, etc.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gonzáles M. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. [Artículo de investigación]. Revista Habana Ciencia médica. 2019; 18 (1). [Citado el 20 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/xaf48>.
2. Vilaplana M. Antioxidantes presentes en los alimentos. Vitaminas, minerales y suplementos. [Artículo de investigación]. Elsevier. 2007; 26 (10):79-86. [Citado el 20 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/7rhq9>.
3. Venéreo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. [Artículo de investigación]. Revista Cubana médica Mil. 2002; 31 (2). [Citado el 20 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/excxu>.
4. León D. Factores que influyen en el conocimiento tradicional de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en dos comunidades indígenas. [Proyecto de investigación]. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador, 2017.
5. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 – 2023. Ginebra, 2013. [Citado el 20 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/cyj0nv>.
6. Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA. Guía de manejo agronómico de mashua para conservación *ex situ*. [Guía técnica]. 1era edición digital. Perú, marzo - 2023.
7. Valle M. Caracterización morfológica y fenología en variedades de *Tropaeolum tuberosum* (mashua) de interés medicinal. [Proyecto de investigación]. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador, 2017.
8. Dilas J, Ascurra D. Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) cultivo subutilizado con alto potencial para zonas altoandinas en el Perú. [Artículo de investigación]. Revista de investigación científica y tecnológica. 2020; 1 (1). [Citado el 20 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/onrwk>.
9. Ibarra J. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico del tubérculo *Tropaeolum tuberosum* “mashua” en *Rattus rattus* *vas. albinus*. [Tesis]. Repositorio – Universidad Católica los Ángeles Chimbote. Chimbote – Perú, 2019. [Citado el 20 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/5dlnx>.
10. Linares V y Vicente W. Polifenoles totales, actividad antioxidante *in vitro* y antiinflamatoria *in vivo* del extracto hidroalcohólico de las variedades roja y púrpura de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón “mushua”. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú, 2018. [Citado 21 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/29h13>.

11. Riojas Z. Actividad antioxidante y polifenoles totales del extracto hidroalcohólico de tres ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R y P. “mushua”. Ayacucho 2018. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú, 2018. [Citado 21 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/3eppe>.
12. Córdova K. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* R y P. (mashua negra) en ratas albinas. [Tesis]. Repositorio – Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Lima – Perú, 2019. [Citado 21 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/7g5e5>.
13. Flores E, Apaza J, Calsina W, Quille G, Huanca F, Coloma A, *et al.* Conocimiento ancestral en la curación de la próstata a base de isaño (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón). [Artículo de investigación]. Idesia. 2020; 38 (4). [Citado 21 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/8v842>.
14. Mendoza J. Actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las semillas germinadas de cinco variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. “quinua”. Ayacucho 2020. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú, 2020. [Citado el 21 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/l977e>.
15. Salazar J, Villanueva M, García E, Soto G. Actividad antiinflamatoria *in vitro* de los extractos etanólico y hexánico de tallos de *Cuscuta jalapensis* Schldl. [Trabajo de investigación]. Investigación y Ciencia. 2018; 26 (75): 20 – 27. [Citado el 21 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/vhchv>.
16. Chacón M. Actividad fotosintética asociada con el intercambio gaseoso de nueve morfotipos del cultivo de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón. “mashua”. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Arequipa – Perú, 2019. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/ck82d>.
17. Espín C. Aporte al rescate de la mashua aplicando técnicas de cocina de vanguardia. [Trabajo de graduación]. Universidad de Cuenca. Cuenca – Ecuador, 2013. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/yp939>.
18. Manrique I, Arbizu C, Vivanco F, Gonzales R, Ramírez C, Chávez O, *et al.* *Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón. Colección de germoplasma de mashua conservada en el Centro Internacional de la papa (CIP). 1er edición. Perú, 2013. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/9qau7>.

19. Arteaga D, Chacón L, Samamé V, Valverde D y Paucar L. Mashua (*Tropaeolum tuberosum*): Composición nutricional, características químicas, compuestos bioactivos y propiedades beneficiosas para la Salud. [Trabajo de graduación]. Agroundustrial Science. 2022; 12 (1): 95 – 101. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/t0pye>.
20. Zuta L. ¡Tesoro andino! Científicos ayacuchanos descubren propiedades medicinales de la mashua. Andina. [En línea]. Perú, noviembre 2020. [Citado el 24 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/l2z8v>.
21. Ordoñez M. Cultivo de Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) y sus Perspectivas de Procesamiento en Angaraes. [Trabajo de suficiencia]. Universidad para el Desarrollo Andino. Huancavelica – 2020. [Citado el 10 de junio del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/cem5i>
22. Malpartida R. Características físicas, composición nutricional y compuestos bioactivos en tres variedades de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón): Una revisión. [Artículo]. Revista Tecnológica ESPOL. 2022, 34 (2). [Citado el 10 de junio del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/3q2h6>
23. Ancco T. Características químicas y propiedades funcionales del almidón de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) de las variedades amarilla y negra. [Tesis]. Universidad Nacional José María Arguedas. Apurímac – 2018. [Citado el 11 de junio del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/ol5dgv>
24. Armijo J, Condor C y Hilario B. Estudio experimental del ciclo de liofilización de productos orgánicos naturales. [Artículo]. Revista Peruana de Química e Ingeniería Química. 2008, 11 (2): 23 – 28. [Citado el 11 de junio del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/oyxc5x>
25. Taípe L. Fenoles totales y actividad antioxidante en mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en estado fresco, soleado y cocido de las variedades amarillo zapallo y negra. [Tesis]. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo – Perú, 2017. [Citado el 20 de agosto del 2023].
26. Rojas M. Evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales en extractos de las hojas de tres especies de plantas medicinales de Campo Verde, Ucayali – 2018. tesis Universidad nacional intercultural de la amazonia. Yarinacocha – Perú, 2019. [Citado el 27 de febrero del 2024].
27. Abarca R y Petricevich V. Importancia biológica de los compuestos fenólicos. Artículo. Inventio Ciencia y Tecnología. 2018, 34: 33 – 38. [Citado el 27 de febrero del 2024].

28. García P. Inflamación. [Artículo en línea]. Rev.R. Acad.Cienc. Exact, Fis.Nat. 2008; 102 (1): 91 – 159. [Citado el 24 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/24o3j>.
29. García A, López J y Sánchez M. Respuesta inflamatoria sistémica: fisiopatología y mediadores. [Citado el 24 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/vqgx2>.
30. Hevia A. Aspectos Farmacológicos y clínicos. [Artículo en línea]. Universidad de Sevilla. España, 2015. [Citado el 24 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/qyt0k>.
31. Pérez A, López A y Grau I. Antiinflamatorios no esteroideos (AINES). Consideraciones para su uso estomatológico. [Artículo en línea]. Revista cubana Estomatol. 2002; 39 (2). [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/mw7il>.
32. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 13ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores; 201.
33. katzung B. Farmacología. Básica y clínica. 13ª edición, editorial McGraw-Hill; 2016.
34. Velazquez. Farmacología Básica y Clínica. 19ª Edición. Editorial Panamericana; 2017.
35. Keb A. Mecanismo de los AINES y antiinflamatorios derivados para el control del dolor y la inflamación. Uso de antiinflamatorios en odontología. [Artículo en línea]. Revista ADM, 2022; 79 (1): 38 – 47. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/1wng2n>.
36. Maldonado O. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico – degenerativas. [Artículo en revisión]. Revista Médica UV, 2010: 32 – 39. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/4tafm>.
37. Constanza L. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. [Artículo en revisión]. Publicación en Ciencias Biomédicas, 2012; 10 (18): 135 – 250. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/cv3n>.
38. Venéreo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. [Artículo en línea]. Rev cubana Med Milit, 2002; 31 (2): 126 – 133. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/8cf87>.

39. Coronado M. Antioxidantes: perspectiva actual de la salud humana. [Artículo en revisión]. Rec Chil Nutr, 2015; 42 (2). [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/jmk2>.
 40. Guíja H. Radicales libres y sistema antioxidante. [Artículo en revisión]. Horiz Med, 2023; 22 (2). [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/n2s98>.
 41. Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. [Artículo]. Rev. Anales de la Facultad de Medicina. Costa Rica. 1996; Vol.57 N°4: 278-281.
 42. Centeno Y. Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2018. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú, 2018. [Citado el 10 de noviembre del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/m81yt>.
 43. Gutiérrez G. Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos de cuatro cultivares del germinado de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”. Ayacucho 2018. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú, 2018. [Citado el 10 de noviembre del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/dhobj>.
 44. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Cuba-La Habana: 1996.
 45. Farfán F. Actividad antiinflamatoria *in vitro* de los compuestos fenólicos aislados de las semillas de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. “quinua”. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú, 2016.
 46. Shinde U, Phadke A, Nair A, Mungantiwar A, Dikshit, Saraf M. Estabilidad de membrana: un posible mecanismo de acción de los antiinflamatorios del aceite de madera de *Cedrus deodara* Wood oil. [Artículo]. Elsevier. Fitoterapia, 1999; 70 (3): 251 – 257. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/9xrpn>.
 47. Kamlesh P, Agarwal K y Saini P. To study *in vitro* anti-inflammatory activity of *Anthrcephalus cadamba* leaves extract. [Artículo]. DHR International Journal of Pharmaceutical Science, 2012; 3 (1): 55 – 60. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/nzl7h>.
-

48. Hernández R. Fernández C. y Baptista P. Metodología de la investigación. 5.^a ed. México: McGraw-Hill; 1991.
49. Del águila S. El cultivo e importancia socio-económico-cultural del cultivo de la Mashua. Monografía. Universidad Nacional de Educación. Lima – 2018. [Citado el 27 de febrero del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/gq38w>
50. Chirinos L y Miramira T. Efecto hipoglucemiante de dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón): negra y amarilla en ratas wistar diabéticas inducidas por aloxano, puno 2016. [Tesis]. Universidad Nacional del Altiplano, 2017. [Citado el 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/84ipg>
51. Aruquipa R, Trigo R, Bosque H, Mercado G y Condori J. El isaño (*Tropaeolum tuberosum*) un cultivo de consumo y medicina tradicional en Huatacana para el beneficio de la población boliviana. Artículo de investigación. Revista de investigación e innovación agropecuaria y de recursos naturales. 2016, 3 (2). [Acceso 23 de agosto del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/hy8cg>
52. Feliciano O, Robles R, Chirre J, Santisteban O, Feliciano J y Flórez W. identificación de los principios activos de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum*) y el efecto del proceso de elaboración de una bebida mix de mashua con piña. Artículo. Ingeniería industrial. 2021, 40: 171 - 190. [Citado el 27 de febrero del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/nvelh>
53. Vílchez P, Actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho, 2017. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, 2018. [Citado el 5 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/7s9fb>
54. Cisneros J. Técnicas de evaluación de la actividad antiinflamatoria “*in vitro*” y su aplicabilidad a plantas medicinales. [Trabajo de titulación]. Universidad de Cuenca. Ecuador - 2021. [Citado el 29 de febrero del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/a741j1>
55. García J, Pariona C y Londoño R. Actividad antiinflamatoria *in vitro* de los polisacáridos sulfatados de *Patallus mollis* extraídos mediante digestión enzimática. [Artículo]. Revista Peruana de Medicina Integrativa. 2017, 2(3): 759 – 764. [Citado el 29 de febrero del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/06g2ab>
56. Aguilar E. Actividad antiinflamatoria, capacidad antioxidante y toxicidad de compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de hojas de *Senecio*

- rufescens* D.C. [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – 2023. [Citado el 01 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/uuied>
57. Ibarra J. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* “mashua” en *Rattus rattus* var. *albinus*. [Tesis]. Universidad Católica Los Ángeles Chimbote. Chimbote – 2019. [Citado el 29 de febrero del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/5dlnx>
 58. Jiménez M, Miranda M, Choez I, Gutierrez Y, Scull R y Abreu J. Caracterización morfológica, química y actividad antiinflamatoria de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pav. Kuntze (Tropaeolaceae) Pink variety. [Artículo]. Revista Cubana de Farmacia. 2021, 51 (2): 574. [Citado el 29 de febrero del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/1xj7qx>
 59. Linares V y Vicente W. Polifenoles totales, actividad antioxidante in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcohólico de las variedades roja y púrpura de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón “mashua”. [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – 2018. [Citado el 29 de febrero del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/62pkq>
 60. Gimeno E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. [Artículo]. Ámbito Farmacéutico. 2004, 23 (6): 80 – 84. [Citado el 3 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/7eub>
 61. Muñoz E, Rivas K, Loarca G, Mendoza S, Reynoso R y Ramos M. Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. [Artículo]. Revista mexicana de ciencias agrícolas. 2012, 3 (3). [Citado el 3 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/h6j42>
 62. Figueroa M, Romero S, Gómez R y Reynoso R. Propiedades de los compuestos fenólicos para el control de la glucosa. [Artículo de investigación]. Universidad Autónoma de Querétaro. 2016, [Citado el 3 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/7nrafx>
 63. Misaraime M. Capacidad antioxidante, fenoles totales y flavonoides de veinte variedades de la semilla de *Chenopodium quinoa* Willd. “quinua”. Ayacucho 2022. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú, 2022. [Citado el 10 de noviembre del 2023]. Disponible: <https://n9.cl/mjvje>
 64. Zenil N, Colinas T, Butista C, Vazquez T, Lozoya H y Martínez T. Fenoles totales y capacidad antioxidante estimada con los ensayos DPPH/ABTS en

- rosas en soluciones preservantes. [Artículo de investigación]. Revista mexicana de ciencias agrícolas. 2014, 5 (6). [Citado el 3 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/h51ol>
65. Tovar J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. [Tesis]. Universidad Tecnológica de Pereira, 2013. [Citado el 3 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/jez1r>
 66. Riojas A, Vizaluque B, Aliaga E, Tejeda L, Book O, Mollinedo P y Mauricio J. Determinacion de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de *Chenopodium quinoa*. [Artículo]. Revista Boliviana de Química. 2018, 35 (5): 168 – 176. [Citado el 3 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/ezhw2>
 67. Miller N, Rice-Evans C, Davies M, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science. 1993; 84 (4): 407-12
 68. Peñafiel L y Castro A. Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y anticolesterol *in vitro* del extracto liofilizado de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón “mashua negra”. [Artículo]. Ciencias. 2017, 14 (3). [Citado el 5 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/38kv7>
 69. Anaya R. Contenido de antocianinas, polifenoles totales, vitamina C y rendimiento de colorante en mashua negra (*Tropaeolum tuberosum*) cultivado en tres altitudes de la región Huánuco. [Tesis]. Universidad Nacional Hermilio Valdizar. Huánuco – 2018. [Citado el 5 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/lg087>
 70. Alkhalidy D, Wang Y y Liu D. Dietary Flavonoids in the Prevention of T2D: An Overview. [Artículo]. Nutrients. 2018, 10 (4): 438. [Acceso 5 de marzo del 2024]. Disponible: <https://n9.cl/teblg>.

ANEXOS

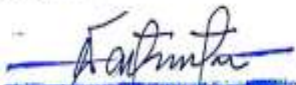
Anexo 1

Constancia de identificación botánica de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. "mashua negra".

CONSTACIA		
LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMIA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTACIA:		
Que, la Bach. En Farmacia y Bioquímica, Srt. Tania Tarcila VILA SOSA , ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.		
Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el sistema de Clasificación de Cronquist A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:		
DIVISIÓN	unh	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	unh	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	unh	ROSIDAE
OREDEN	unh	GERANIALES
FAMILIA	unh	TROPAEOLACEAE
GENERO	unh	Tropaeolum
ESPECIE	unh	Tropaeolum tuberosum R. & P.
N.V.	unh	"mashua negra"
Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.		
Ayacucho, 10 de Octubre del 2023		
 LAURA AUCASIME MEDINA BIÓLOGA Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII		

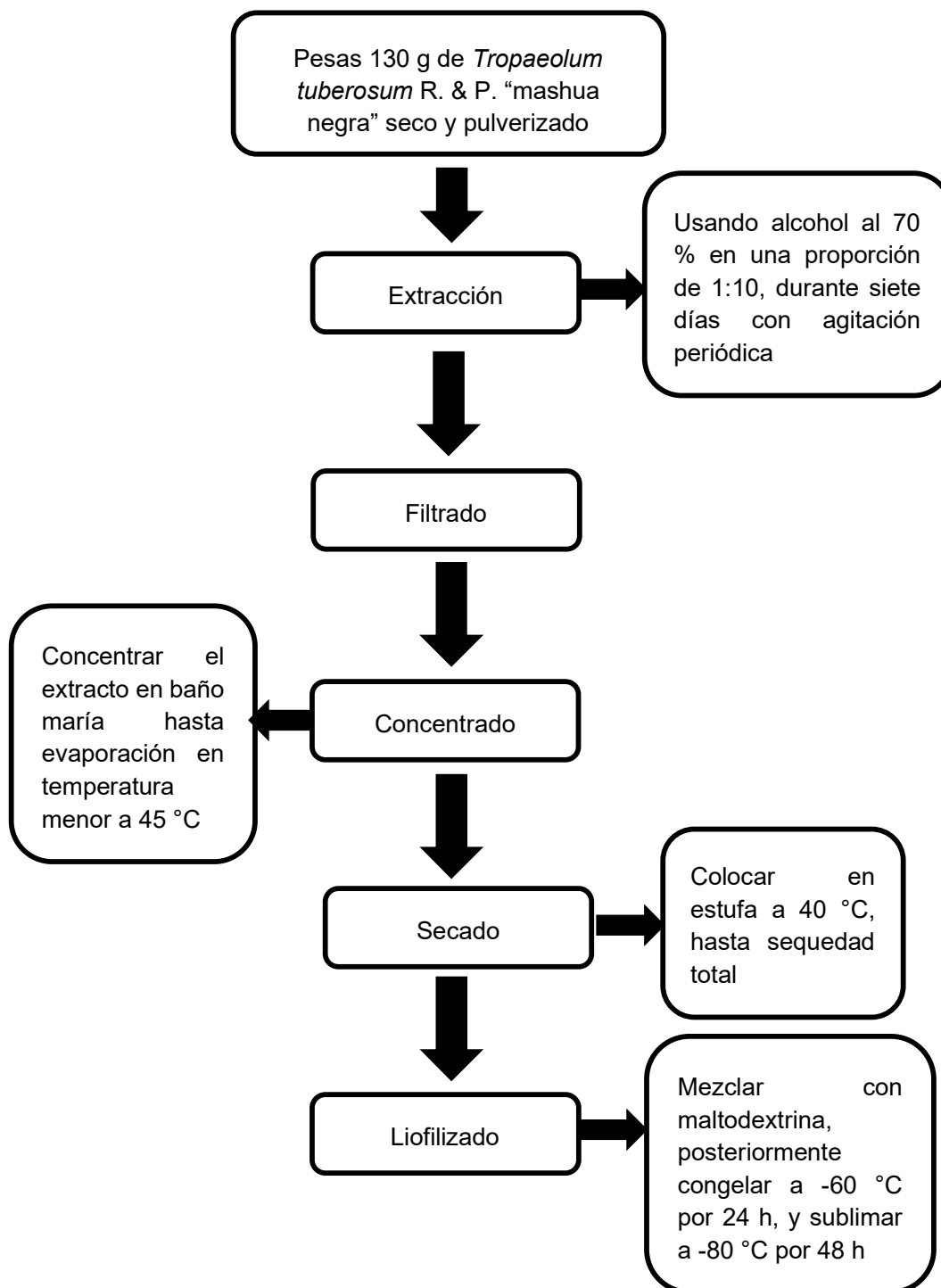
Anexo 2

Certificado de identificación de la variedad mashua negra de *Tropaeolum tuberosum* R. & P.

	UNSCH FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS	DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA - DAAZ
EL QUIEN SUSCRIBE, PROFESOR DE LA CATEDRA DE TUBEROSAS Y GRANOS ANDINOS DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA: CERTIFICA: Que, la Bachiller TANIA TARCILA VILA SOSA de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica ha solicitado la identificación de una muestra de mashua negra <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav., la que fue identificado como sigue: Muestra 1: Ecotipo de Mashua Negra Procedencia: Huamanguilla-Huanta Forma de los tubérculos: cónicas Tamaño de tubérculos: medianos Color de pulpa: blanco manchado de color azul-morado en la parte apical Se expide el presente certificado a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente. Ayacucho, 27 de setiembre de 2023  Ing. Walter A. Mateu Mateo DOCENTE Catedra de Tuberosas y Granos Andinos		

Anexo 3

Diagrama de flujo para la obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado.



Anexo 4

Preparación de la muestra para la obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado.



A



B



C



D



E



F

A: Tubérculos de mashua recolectados, **B:** Lavado y desinfección de los tubérculos, **C:** Tubérculos trozados en forma transversal. **D:** desecación de los tubérculos a 45 °C, **E:** tubérculos secos de mashua, **F:** Proceso de trituration.

Anexo 5

Obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado



A



B



C



D



E



F



G

A: Preparación de alcohol al 70%, **B:** mezcla del alcohol 70% con la mashua seca y molida (1:10), **C:** Extracto hidroalcohólico de mashua macerado por 7 días, **D:** Filtrado del extracto, **E:** Concentrado en baño maría a 45 °C, **F:** Extracto hidroalcohólico, **G:** Proceso de liofilización del extracto.

Anexo 6

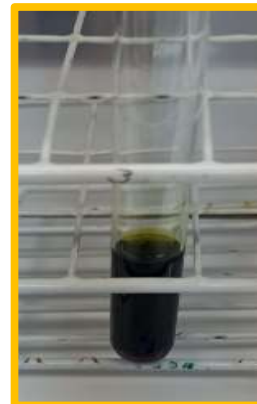
Resultados de identificación de los metabolitos secundarios.



Compuestos
fenólicos (FeCl_3)



Flavonoides
(Shinoda)



Cumarinas (Baljet)



Alcaloides
(Dragendorff)



Alcaloides (Wagner)



Alcaloides (Mayer)

Anexo 6

Resultados de identificación de los metabolitos secundarios. (continuación)



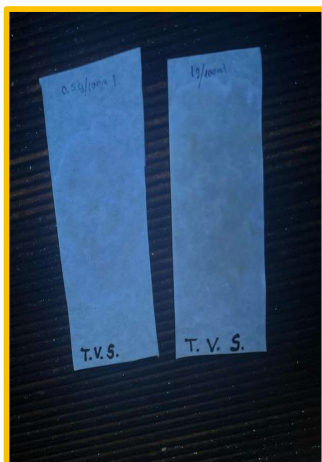
Azúcares reductores
(Fehling)



Azúcares reductores
(Benedict)



Saponinas
(Espuma)



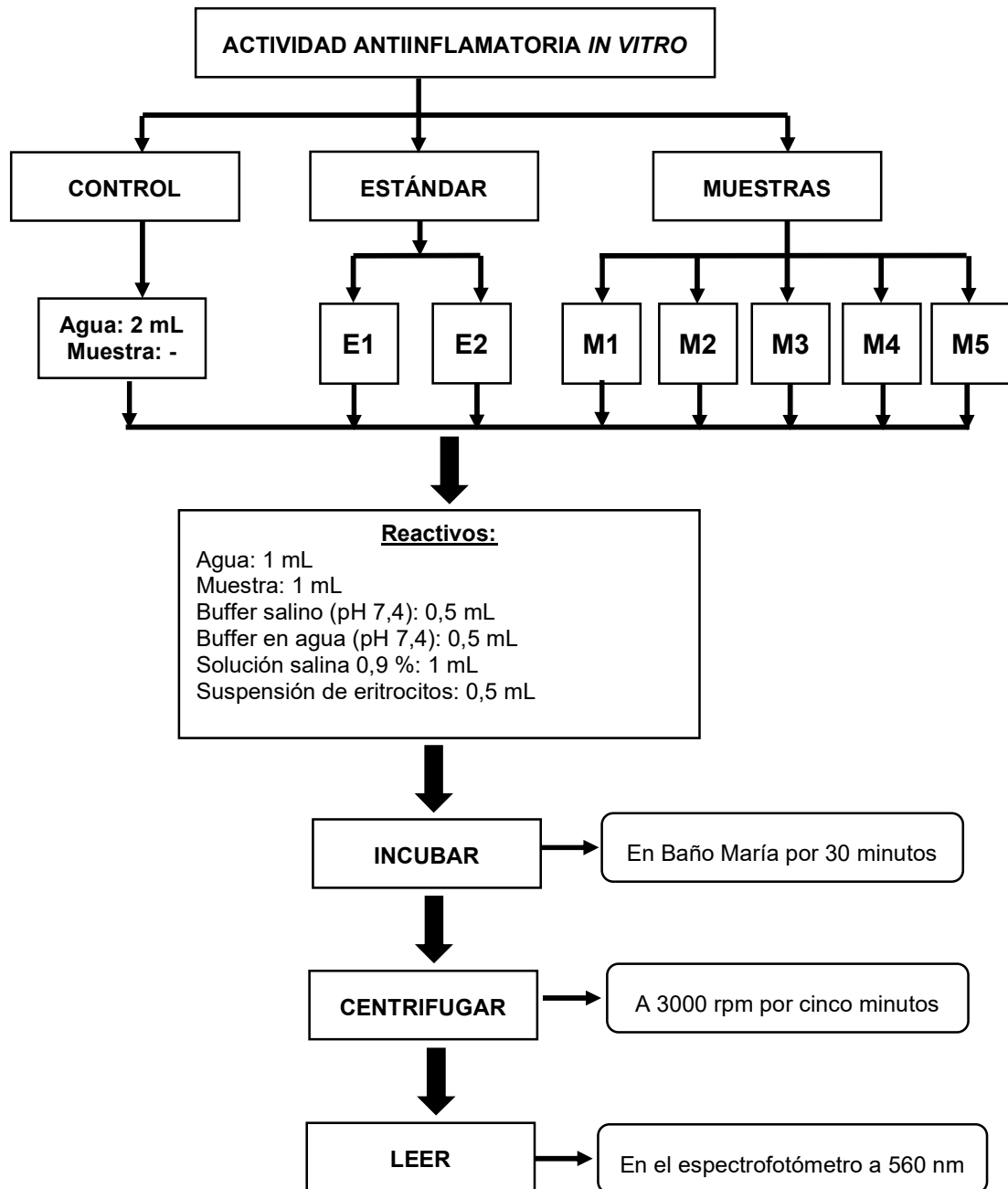
Catequinas
(Catequinas)



Aminoácidos
(Ninhidrina)

Anexo 7

Diagrama de flujo para la determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*.



Anexo 8

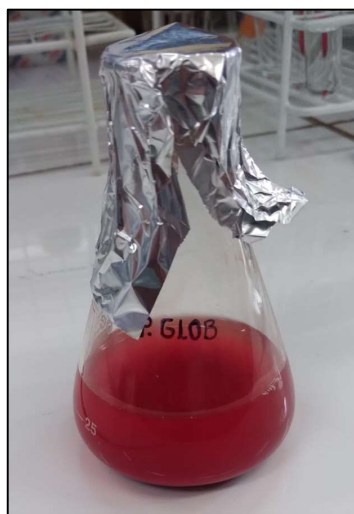
Preparación de la suspensión de eritrocitos en la determinación de la actividad antiinflamatoria.



Extrae 4 mL de sangre + 4 mL de reactivo Alsever y centrifugar a 3000 rpm por 10 min



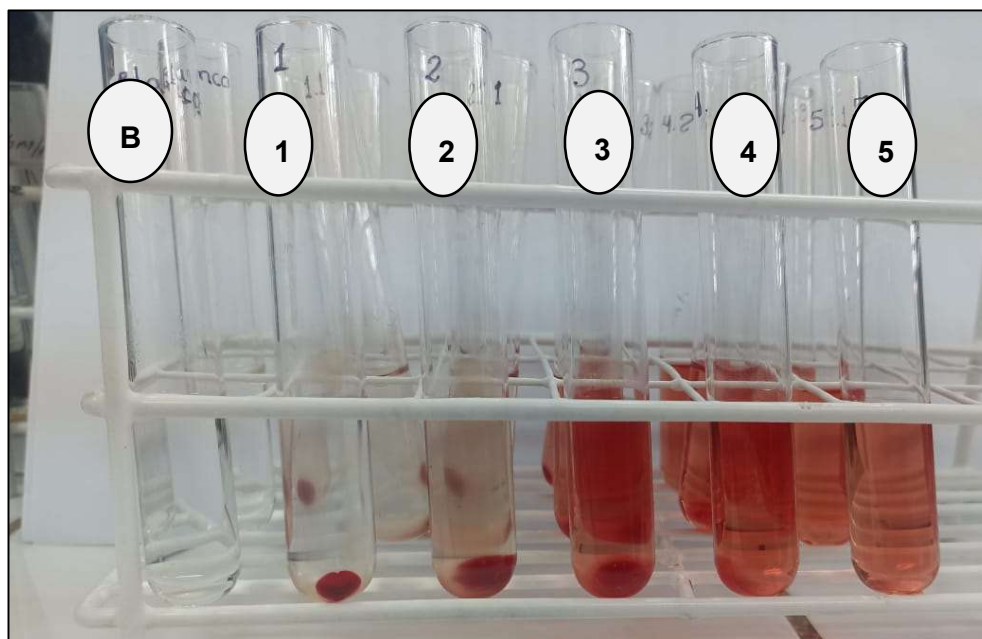
Lavamos el empaquetado globular con suero fisiológico 0,9%, hasta eliminar el suero



Preparar una suspensión de eritrocitos al 10% con suero fisiológico 0,9%

Anexo 9

Estandarización del método de protección de membrana de eritrocitos para determinar la actividad antiinflamatoria *in vitro*.



Hemólisis de eritrocitos

Absorbancia de cada tubo analizado

	TUBOS				
	1	2	3	4	5
	0,187	0,319	1,021	1,233	1,530
Absorbancia	0,165	0,302	1,131	1,399	1,331
	0,153	0,354	1,114	1,403	1,634
PROMEDIO	0,168	0,325	1,089	1,345	1,689
DE	0,017	0,027	0,059	0,097	0,152

Leyenda; DE: Desviación estándar.

Anexo 10

Determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*.



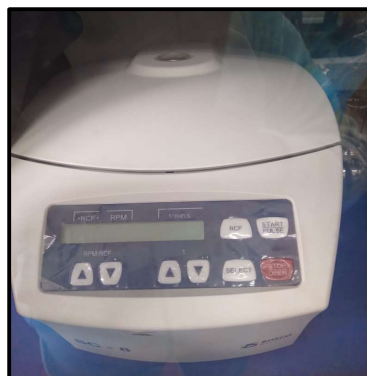
Medición del pH para el Buffer salino y Buffer en agua (pH 7.4)



Adicionando las soluciones preparadas, estándar, y muestras en los tubos según la Tabla 6.



Incubando a 37 °C en baño maría por 30 minutos



Centrifugar a 3000 rpm por cinco minutos

Anexo 11

Resultados de la determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*.



Prevención de la hemólisis por cada muestra analizada

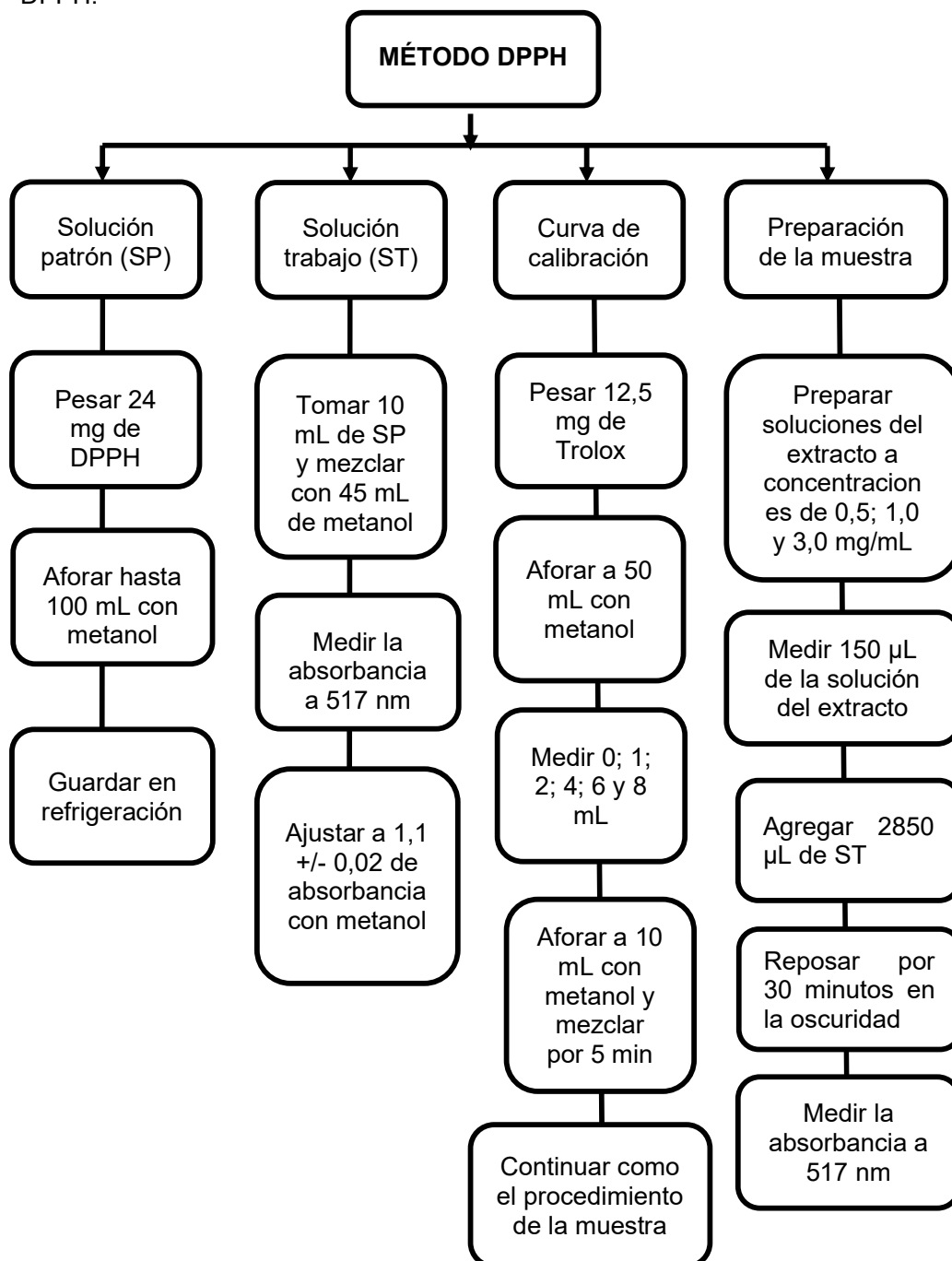
Absorbancias a 560 nm y porcentaje de protección de membrana en cada repetición de las muestras

ESTANDARES							EXTRACTO LIOFILIZADO								
C	1		2		3		4		5		6		7		
CONTROL	DEXAMETASONA 1 mg/mL		DICLOFENACO 1 mg/mL		0,1 mg/mL		0,25 mg/mL		0,5 mg/mL		1 mg/mL		3 mg/mL		
	Abs	Abs	%	Abs	%	Abs	%	Abs	%	Abs	%	Abs	%	Abs	%
	1,007	0,715	33,591	0,503	53,282	0,915	15,015	0,856	20,495	0,805	25,232	0,695	35,449	0,248	76,966
	1,124	0,720	33,127	0,500	53,560	0,931	13,529	0,852	20,867	0,815	24,303	0,707	34,334	0,219	79,659
	1,099	0,723	32,848	0,530	50,774	0,943	12,415	0,820	23,839	0,809	24,861	0,710	34,056	0,221	79,474
X	1,077	0,719	33,189	0,511	52,539	0,930	13,653	0,843	21,734	0,810	24,799	0,704	34,613	0,229	78,700
DE	0,062	0,004	0,375	0,017	1,535	0,014	1,305	0,020	1,833	0,005	0,467	0,008	0,737	0,016	1,504

Leyenda; X: Promedio, DE: Desviación estándar, %: Porcentaje de protección de membrana, Abs: Absorbancia.

Anexo 12

Diagrama de flujo para la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH.



Anexo 13

Curva de calibración de Trolox en el método DPPH.



Curva de calibración

Absorbancia a 517 nm y porcentaje de actividad antioxidante

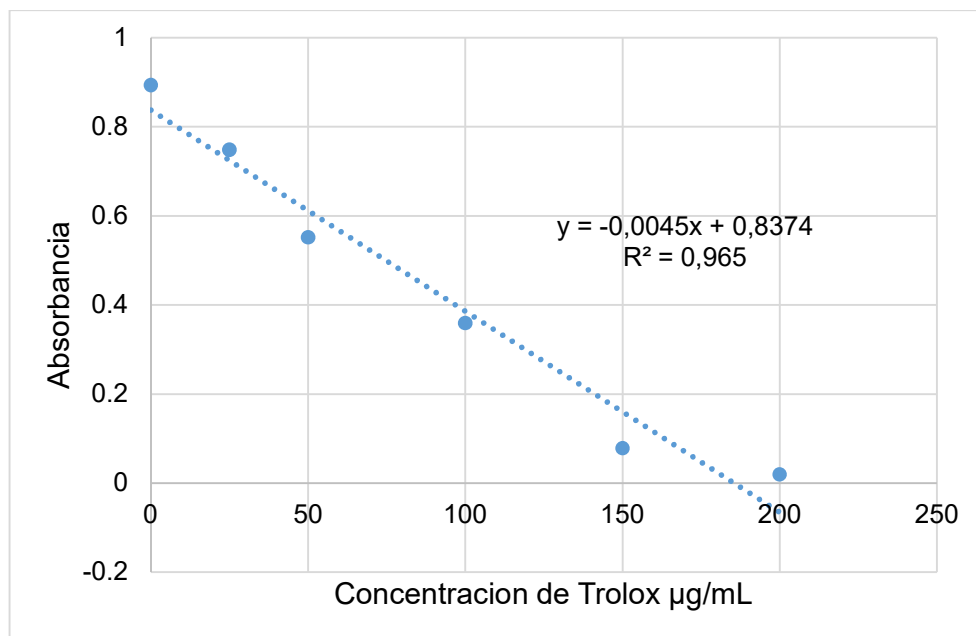
Tubo	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbancia	%AA
1	0	0,894	19,314
2	25	0,749	32,401
3	50	0,552	50,181
4	100	0,36	67,509
5	150	0,079	92,870
6	200	0,020	98,195

Absorbancia Del DPPH: 1,108

Leyenda; AA: Actividad antioxidante

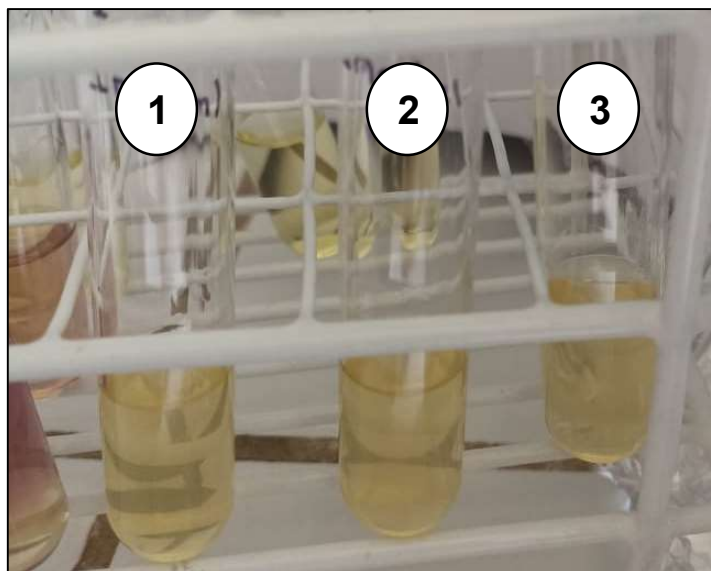
Anexo 13

Curva de calibración de Trolox en el método DPPH (Continuación).



Anexo 14

Actividad antioxidante por el método DPPH.



Absorbancia a 517 nm y porcentaje de actividad antioxidante en cada repetición de las muestras

Concentración	0,5 mg/mL		1 mg/mL		3 mg/mL	
Tubo	1		2		3	
	Abs	%AA	Abs	%AA	Abs	%AA
	0,613	44,675	0,441	60,199	0,300	72,924
	0,650	41,336	0,481	56,588	0,307	72,292
	0,623	43,773	0,472	57,401	0,313	71,751
Promedio	0,629	43,261	0,465	58,063	0,307	72,323
DE	0,019	1,727	0,021	1,894	0,007	0,587

Absorbancia Del DPPH: 1,108

Leyenda; Abs: Absorbancia, AA: Actividad antioxidante, DE: Desviación estándar.

Anexo 15

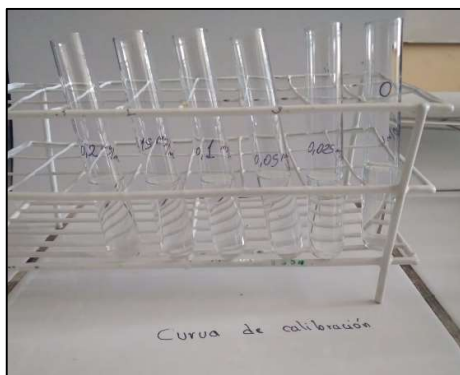
Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH



Peso de 24 mg de DPPH y aforamos en 100 mL con metanol



Ajuste de la absorbancia del DPPH hasta 1,1 $\pm$ 0,02



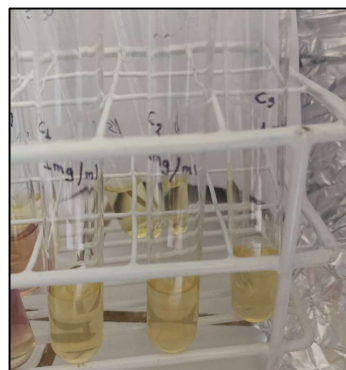
Preparación de la curva de calibración de Trolox



Preparación de las soluciones del extracto a 0,5; 1,0 y 3,0 mg/mL



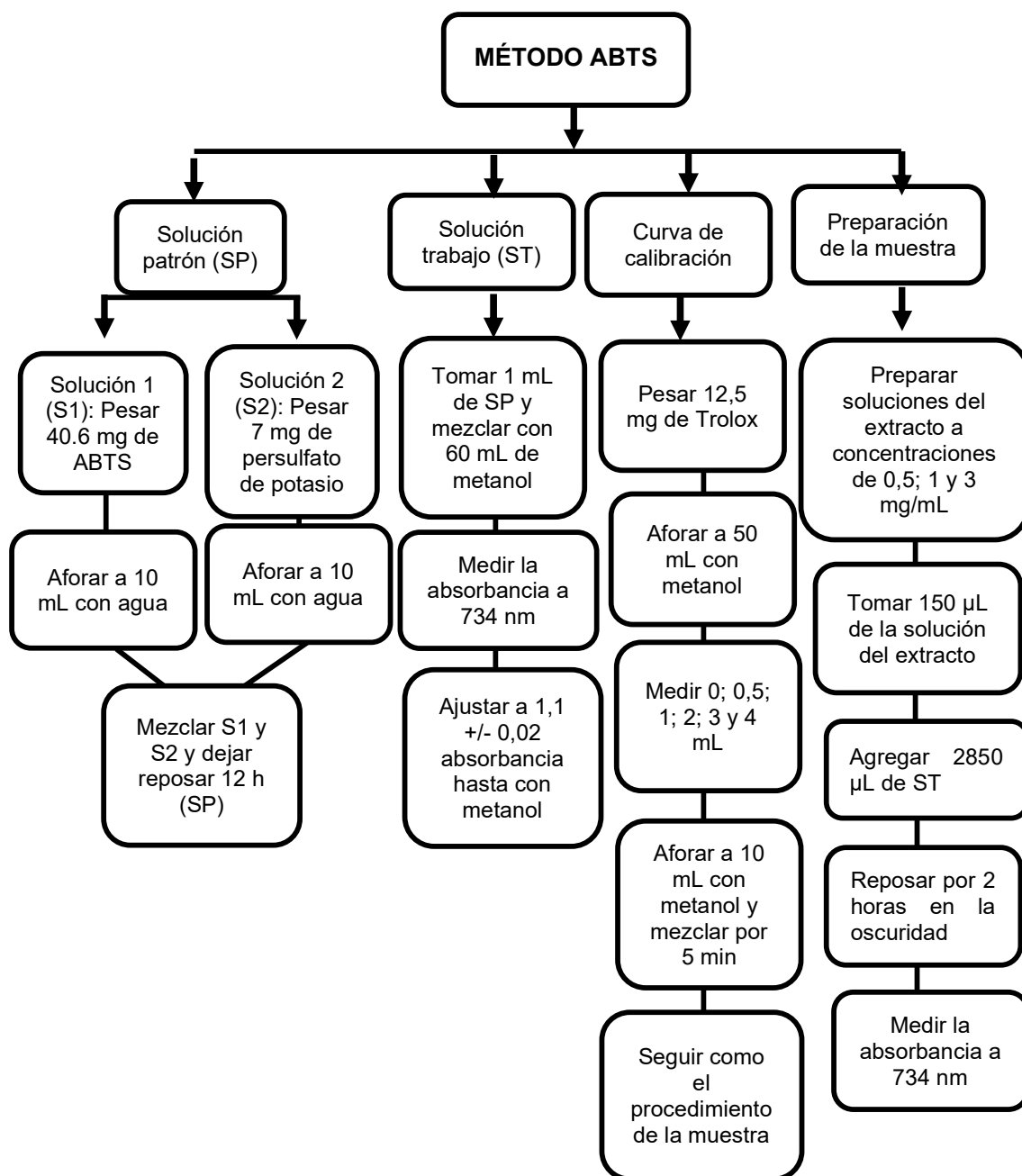
Reacción de las soluciones de Trolox con el DPPH



Reacción de la solución del extracto con el DPPH

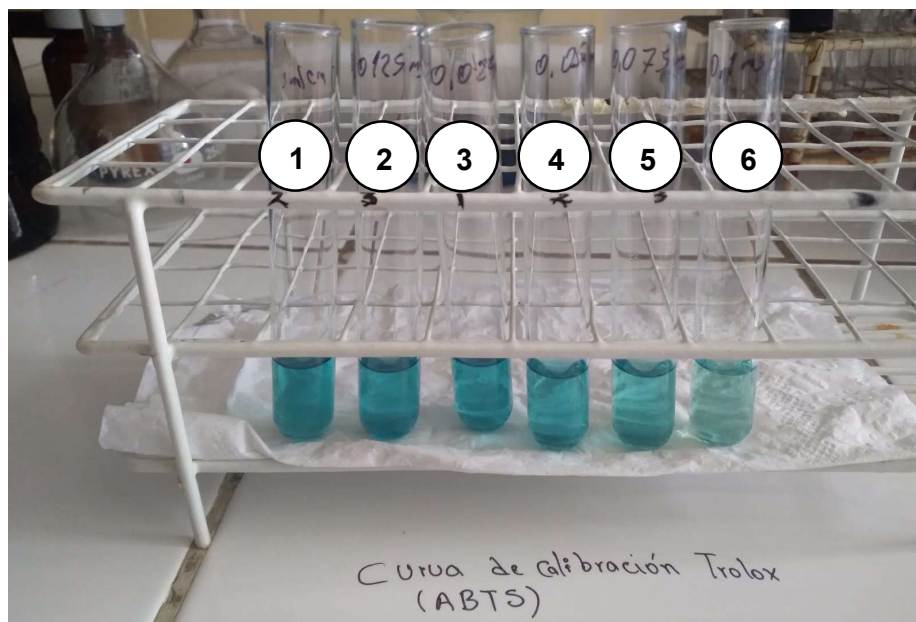
Anexo 16

Diagrama de flujo para la determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS.



Anexo 17

Curva de calibración de Trolox por el método ABTS.



Curva de calibración

Absorbancia a 734 nm y porcentaje de actividad antioxidante

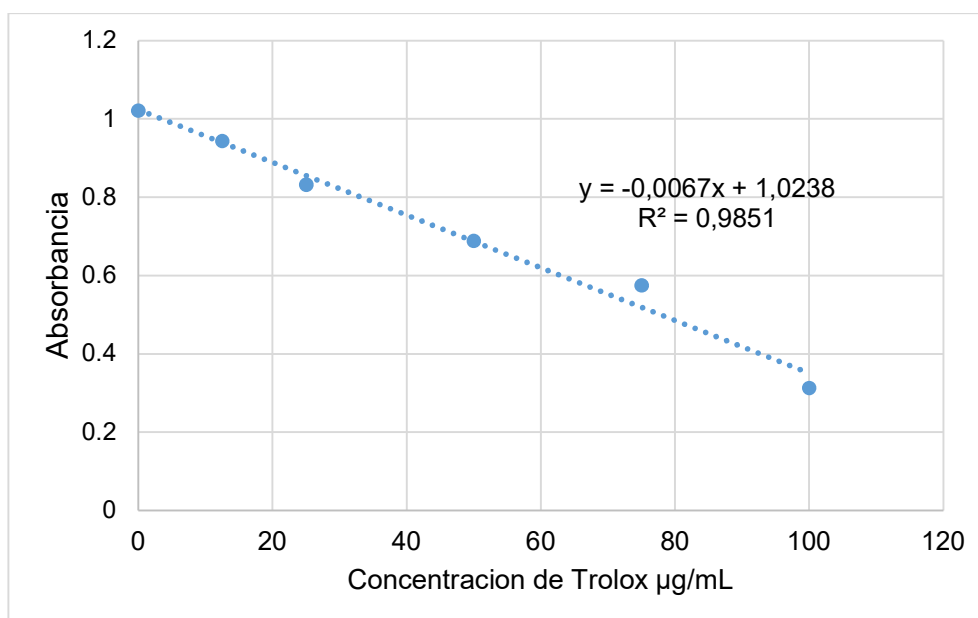
Tubo	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia	%AA
1	0	1,022	6,581
2	12,5	0,944	13,711
3	25	0,833	23,857
4	50	0,689	37,020
5	75	0,575	47,441
6	100	0,313	71,389

Absorbancia del ABTS: 1,094

Leyenda; AA: Actividad antioxidante

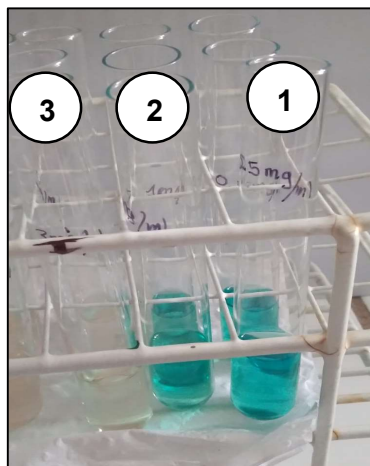
Anexo 17

Curva de calibración de Trolox por el método ABTS. (Continuación).



Anexo 18

Actividad antioxidante por el método ABTS.



Absorbancia a 734 nm y porcentaje de actividad antioxidante en cada repetición de las muestras

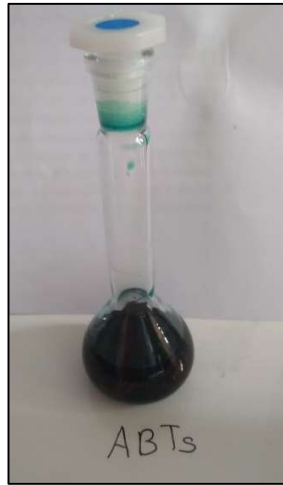
Concentración	0,5 mg/mL		1,0 mg/mL		3,0 mg/mL	
Tubo	1		2		3	
	Abs	%AA	Abs	%AA	Abs	%AA
	0,747	31,718	0,379	65,356	0,060	94,516
	0,756	30,896	0,412	62,340	0,066	93,967
	0,722	34,004	0,387	64,625	0,077	92,962
Promedio	0,742	32,206	0,393	64,107	0,068	93,815
DE	0,018	1,610	0,017	1,574	0,009	0,788

Absorbancia del ABTS: 1,094

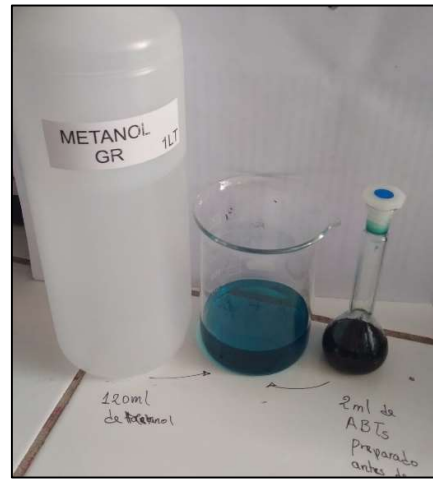
Leyenda; Abs: Absorbancia, AA: Actividad antioxidante, DE: Desviación estándar.

Anexo 19

Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS



Solución Patrón (SP),
reposado durante 12 horas



Solución Trabajo (ST),
ajustar la absorbancia del
ABTS hasta $1,1 \pm 0,02$



Preparación de la curva de
calibración de Trolox



Reacción de la solución del
extracto con el ABTS



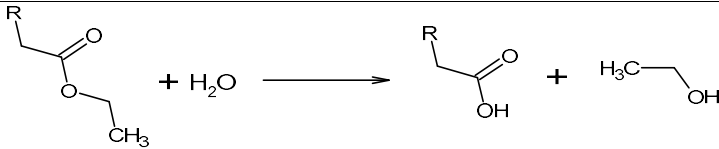
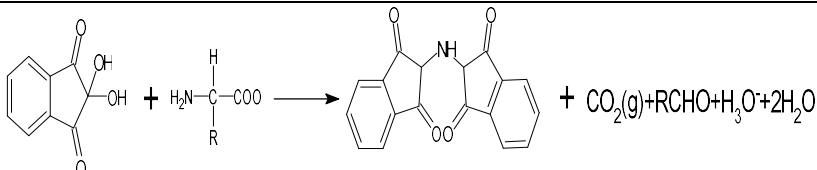
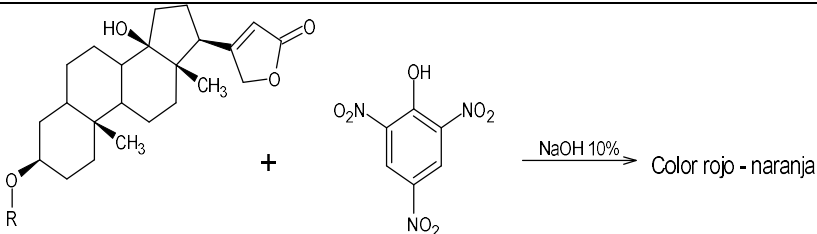
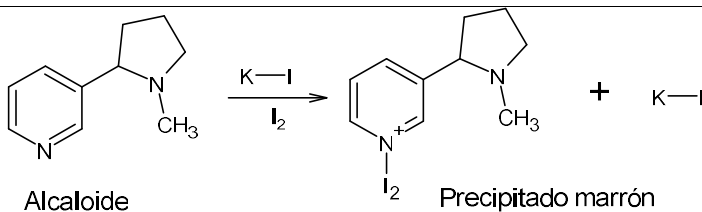
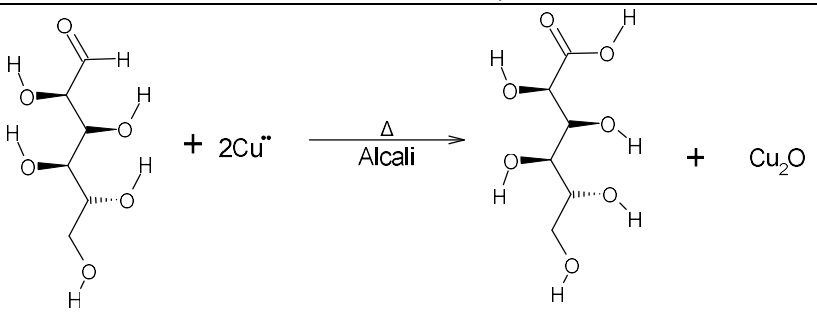
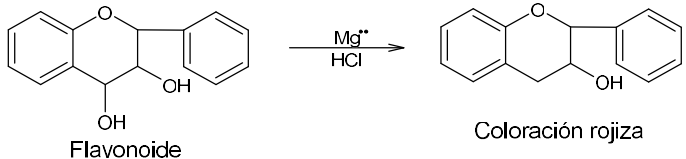
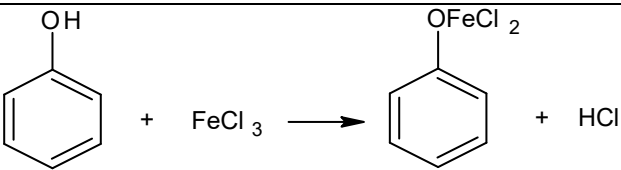
Reacción de la solución de
Trolox con el ABTS



Reacción de la solución del
extracto con el ABTS

Anexo 20

Reacciones químicas del tamizaje fitoquímico

Prueba de saponinas			
Prueba de ninhidrina			
Prueba de Baljet			
Prueba de Wagner			
Prueba de Fehling			
Prueba de Shinoda			
Prueba de Cloruro férrico			

Coloración rojiza

Anexo 21

Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas de la prueba de protección de membrana de eritrocitos humanos.

Prueba de normalidad				
	Tratamiento	Shapiro-Wilk	gl	Sig.
Actividad antiinflamatoria	Dexametasona 1 mg/mL	0,981	3	0,734
	Diclofenaco 1 mg/mL	0,824	3	0,174
	Extracto al 0,1 mg/mL	0,993	3	0,839
	Extracto al 0,25 mg/mL	0,832	3	0,193
	Extracto al 0,5 mg/mL	0,986	3	0,776
	Extracto al 1,0 mg/mL	0,889	3	0,352
	Extracto al 3,0 mg/mL	0,803	3	0,121

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Actividad antiinflamatoria	Se basa en la media	2,677	6	14	0,060

Anexo 22

Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de protección de membrana de eritrocitos humanos.

Indicador		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Actividad antiinflamatoria	Entre grupos	8781,854	6	1463,642	969,257	0,001
	Dentro de grupos	21,141	14	1,510		
	Total	8802,995	20			

Anexo 23

Prueba de Tukey del porcentaje de protección de membrana de eritrocitos humanos.

HSD Tukey						
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1a	2b	3c	4a	5e
Extracto al 0,1 mg/mL	3	13,6567				
Extracto al 0,25 mg/mL	3		21,7367			
Extracto al 0,5 mg/mL	3		24,7967			
Dexametasona 1 mg/mL	3			33,1900		
Extracto al 1,0 mg/mL	3			34,6133		
Diclofenaco 1 mg/mL	3				52,5367	
Extracto al 3,0 mg/mL	3					78,7000
Sig.		1,000	0,095	0,784	1,000	1,000

Anexo 24

Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas para el método de DPPH y ABTS.

Prueba de normalidad				
	Tratamiento	Shapiro-Wilk	gl	Sig.
DPPH	0,5 mg/mL	0,935	3	0,509
	1,0 mg/mL	0,908	3	0,412
	3,0 mg/mL	0,985	3	0,767
ABTS	0,5 mg/mL	0,931	3	0,493
	1,0 mg/mL	0,918	3	0,446
	3,0 mg/mL	0,972	3	0,678

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
DPPH	Se basa en la media	1,542	2	6	0,288
ABTS	Se basa en la media	1,180	2	6	0,370

Anexo 25

Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante por el método DPPH.

Indicador		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
DPPH	Entre grupos	1254,207	2	627,104	260,602	0,001
	Dentro de grupos	14,438	6	2,406		
	Total	1268,645	8			

Anexo 26

Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante por el método ABTS.

Indicador		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
ABTS	Entre grupos	5696,101	2	2848,050	1501,855	0,001
	Dentro de grupos	11,378	6	1,896		
	Total	5707,479	8			

Anexo 27

Matriz de consistencia

TÍTULO: Actividad antiinflamatoria y antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Ayacucho 2023.

Problema	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Metodología
¿Tendrá actividad antiinflamatoria y antioxidante <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”?	Objetivos generales, Evaluar la actividad antiinflamatoria y antioxidante <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”. Objetivos específicos: - Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”. - Determinar la actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”. - Determinar la actividad antioxidante <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”.	- Antecedentes - Clasificación taxonómica - Descripción botánica - Origen y distribución - Composición química - Uso medicinal. - Inflamación - Radicales libres - Estrés oxidativo - Antioxidantes	Hi: El extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra” presentan actividad antiinflamatoria y antioxidante <i>in vitro</i>. Ho: El extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra” no presentan actividad antiinflamatoria ni antioxidante <i>in vitro</i>. Ha: El extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra” presentan al menos actividad antiinflamatoria o antioxidante <i>in vitro</i>.	Independiente Extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”. Indicador Actividad antiinflamatoria Concentraciones de 0,1; 0,25; 0,5; 1 y 3 mg/mL. Actividad Antioxidante Concentraciones de 0,5; 1 y 3 mg/mL Dependiente Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> Indicador: Porcentaje de protección de membrana de eritrocitos. Actividad antioxidante <i>in vitro</i> Indicadores: Porcentaje de actividad antioxidante	Tipo de investigación: Básica - experimental, Población: Tubérculos de la variedad “mashua negra” de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. cultivadas en la región Ayacucho. Muestra: dos kg de tubérculos de variedad “mashua negra” de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. Método: Identificación de los metabolitos secundarios Mediante el screening fitoquímico Determinación de la actividad antiinflamatoria Mediante el método de estabilización de la membrana de eritrocitos humanos. Determinación de la actividad antioxidante Mediante el método de secuestro de radical DPPH y método de reacción con radical ABTS. Análisis de datos: Análisis de Varianza (ANOVA) a un nivel de significancia de 95% y la prueba de HSD de Tukey.

Fuente: Elaboración propia

Firmado digitalmente por
Dr. Edwin Carlos Enciso Roca
Fecha:
2024.09.28
20:16:28 -05'00'

Firmado digitalmente por
MARICELA LÓPEZ SIERRALTA
Fecha: 2024.09.30
01:42:06 -05'00'

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N°1066-2024-UNSC-FCSA-D

BACHILLER: TANIA TARCILA VILA SOSA

En la ciudad de Ayacucho, siendo las nueve y cinco de la mañana del día once del mes de octubre del año dos mil veinticuatro, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: **Actividad antiinflamatoria y antioxidante in vitro del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. "mashua negra". Ayacucho 2023**, presentado por la bachiller TANIA TARCILA VILA SOSA para optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

Presidente : Prof. José Alejandro Yarlequé Mujica (Decano)

Miembros : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo

: Prof. Maricela López Sierralta

Prof. Emilio Germán Ramírez Roca

Asesor : Prof. Edwin Carlos Enciso Roca

Secretaria Docente : Prof. Stephany Massiell Barbaran Vilcatoma

Con el quórum reglamentario, se dio inicio la sustentación de tesis. Como acto inicial, el presidente de la comisión solicita a la secretaria docente verificar la conformidad del expediente presentado por la sustentante y dar lectura a la resolución. La secretaria indica que los documentos presentados por la recurrente no tienen observaciones, por lo que procede a leer la resolución decanal y proporciona algunas indicaciones a la sustentante.

A continuación, se da inicio a la exposición del Bachiller: TANIA TARCILA VILA SOSA. Una vez concluida, la presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas. Seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

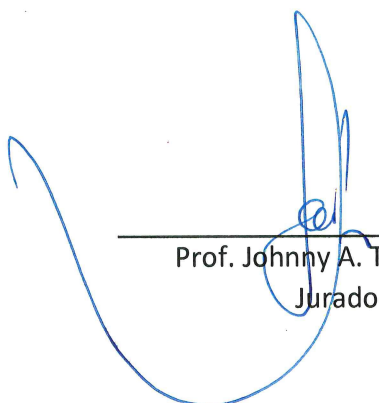
El presidente invita a la sustentante abandonar el auditorium para que pueda proceder con la calificación.

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL

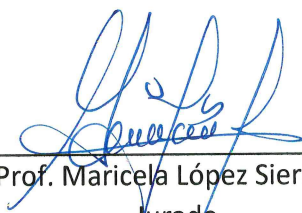
Bachiller: TANIA TARCILA VILA SOSA

JURADOS	Texto	Exposición	Preguntas	P. Final
Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo	18	17	18	18
Prof. Maricela López Sierralta	18	18	18	18
Prof. Emilio Germán Ramírez Roca	17	17	17	17
PROMEDIO FINAL				18

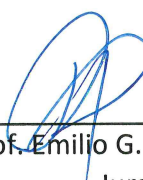
De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller TANIA TARCILA VILA SOSA; quien obtuvo la nota final de dieciocho (18) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo la 11:00 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico.



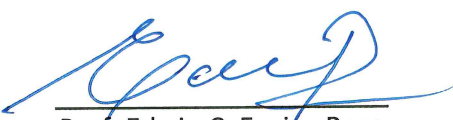
Prof. Johnny A. Tinco Jayo
Jurado



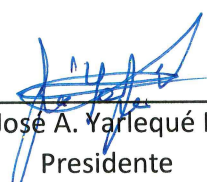
Prof. Maricela López Sierralta
Jurado



Prof. Emilio G. Ramírez Roca
Jurado



Prof. Edwin C. Enciso Roca
Asesor



Prof. José A. Yarlequé Mujica
Presidente



Prof. Stephany M. Barbaran
Vilcatoma
Secretaria docente



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:
TESIS DE PREGRADO

(C°38-2024-EPFB-UNSCH)

La que suscribe, directora de escuela y docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en representación de la decana y delegada por Resolución Decanal N° 077-2021-UNSCH-FCSA/D, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

Actividad antiinflamatoria y antioxidante in vitro del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Ayacucho 2023

Presentado por: Bach. Tania Tarcila, Vila Sosa

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **22% de índice de similitud.**

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH. Por tanto, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 01 de octubre del 2024



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Mg. Maricela López Sierralta
DIRECTORA
Docente. Instructor
Segunda instancia

cc.
Archivo.

Actividad antiinflamatoria y antioxidante in vitro del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Ayacucho 2023

por Tania Tarcila Vila Sosa

Fecha de entrega: 01-oct-2024 12:08a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2471263866

Nombre del archivo: Tesis_Tania_Tarcila_Vila_Sosa.pdf (3.6M)

Total de palabras: 17899

Total de caracteres: 94658

Actividad antiinflamatoria y antioxidante in vitro del extracto hidroalcohólico liofilizado de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra”. Ayacucho 2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

22%

INDICE DE SIMILITUD

21%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

19%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	10%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unsch.edu.pe	5%
	Fuente de Internet	
3	repositorio.uladech.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
4	hdl.handle.net	<1%
	Fuente de Internet	
5	1library.co	<1%
	Fuente de Internet	
6	repositorio.unap.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	
7	www.redalyc.org	<1%
	Fuente de Internet	
8	dialnet.unirioja.es	<1%
	Fuente de Internet	

9	repositorio.unheval.edu.pe Fuente de Internet	< 1 %
10	www.scielo.cl Fuente de Internet	< 1 %
11	www.grafiati.com Fuente de Internet	< 1 %
12	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	< 1 %
13	Submitted to Universidad Nacional Hermilio Valdizan Trabajo del estudiante	< 1 %
14	bindani.izt.uam.mx Fuente de Internet	< 1 %
15	repositorio.udea.edu.pe Fuente de Internet	< 1 %
16	docplayer.es Fuente de Internet	< 1 %
17	Submitted to CONACYT Trabajo del estudiante	< 1 %
18	www.rte.espol.edu.ec Fuente de Internet	< 1 %
19	riaa.uaem.mx Fuente de Internet	< 1 %
20	repositorio.unsa.edu.pe Fuente de Internet	

< 1 %

21

repositorio.uma.edu.pe

Fuente de Internet

< 1 %

22

repositorio.unasam.edu.pe

Fuente de Internet

< 1 %

23

www.elsevier.es

Fuente de Internet

< 1 %

24

cybertesis.unmsm.edu.pe

Fuente de Internet

< 1 %

25

repositorio.unamba.edu.pe

Fuente de Internet

< 1 %

26

repositorio.ucv.edu.pe

Fuente de Internet

< 1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo