Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Ciencias Biológicas

Perfil fitoquímico y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* Ricardi

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en Botánica

AUTOR

Cristian Jesus CUADRA CARRASCO

ASESOR

Mg. Domingo IPARRAGUIRRE LEON

Lima, Perú

2026



Reconocimiento − No Comercial − Compartir Igual − Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Cuadra, C. (2026). *Perfil fitoquímico y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de Malesherbia splendens* Ricardi. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Cristian Jesus Cuadra Carrasco
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	47556240
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0007-5112-8492
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Domingo Iparraguirre León
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08609804
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-9945-1490
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Manuel Jesús Marín Bravo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09409211
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Esther Cox Ramos
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06683100
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Giovana Patricia Vadillo Gálvez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07268590
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.10.0.12 Principios Bioactivos
Grupo de investigación	Aplicación Clínica de Recursos Naturales - ACLIREN

Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Proyecto PCONFIGI 2025. Código B25103831. RR N.° 005446-2025-R/UNMSM.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Laboratorio de Anatomía y Farmacognosia Vegetal, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Latitud: -12.059689 Longitud: -77.082114
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2025 – 2026
URL de disciplinas OCDE	Ciencias de las plantas, Botánica https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.10 Química analítica https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.04.07

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO CON MENCIÓN EN BOTÁNICA (MODALIDAD: SUSTENTACIÓN PRESENCIAL DE TESIS)

Siendo las 14:09 horas del 25 de junio de 2026, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del Jurado formado por los profesores que suscriben, se inició la sesión para optar al **Título Profesional de Biólogo con mención en Botánica** de **CRISTIAN JESUS CUADRA CARRASCO.**

Luego de dar lectura y conformidad al expediente **N.º UNMSM-20260045166**, el titulando expuso su tesis: **PERFIL FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Malesherbia splendens* Ricardi**, y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 19, calificativo: Aprobado con máximos honores.

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Título Profesional de Biólogo con mención en Botánica** a **CRISTIAN JESUS CUADRA CARRASCO** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

Siendo las 15:10 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 25 de junio de 2026.

MANUEL JESUS MARIN BRAVO
(PRESIDENTE)

DOMINGO IPARRAGUIRRE LEON
(ASESOR)

ESTHER COX RAMOS
(MIEMBRO)

GIOVANA PATRICIA VADILLO GALVEZ
(MIEMBRO)

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, DOMINGO IPARRAGUIRRE LEON en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen de la EPCB N° 000010-2026-EPCB-FCB/UNMSM de la tesis, cuyo título es, "PERFIL FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Malesherbia splendens* Ricardi"

presentado por el Bachiller CRISTIAN JESUS CUADRA CARRASCO para optar al Título Profesional de Biólogo con mención en Botánica,

CERTIFICO, que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 13 % de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del Título Profesional de Biólogo con mención en Botánica.

Lima, 10 de junio de 2026

Mg. DOMINGO IPARRAGUIRRE LEON

DNI: 08609804

* Según corresponda: bachiller, magíster, doctor; título profesional o título de segunda especialidad

La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Mg. Domingo Iparraguirre León, asesor de la presente tesis, por su orientación académica y constante apoyo durante el desarrollo de este trabajo de investigación. Su dedicación, paciencia y sólidos conocimientos científicos fueron fundamentales en las distintas etapas del estudio; asimismo, agradezco la oportunidad de trabajar en su laboratorio y las facilidades brindadas para la ejecución de la fase experimental, que contribuyeron de manera significativa a la culminación de la investigación.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el financiamiento brindado mediante el Proyecto PCONFIGI 2025 código B25103831, RR N° 005446-2025-R/UNMSM.

Dedico este trabajo a Dios, fuente de mi fortaleza y guía en mi camino, a mi madre, María, y a mi hermana, Maritza, cuyo apoyo incondicional ha sido fundamental en mi desarrollo.

Índice

AGRADECIMIENTOS i
LISTA DE TABLAS vi
LISTA DE FIGURAS vii
RESUMEN viii
ABSTRACT ix
INTRODUCCIÓN 1
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 4
1.1. Descripción de la realidad problemática 4
1.2. Formulación del problema 5
1.2.1. Problema general 5
1.2.2. Problemas específicos 5
1.3. Justificación e importancia de la investigación 6
1.4. Objetivos de la investigación 7
1.4.1. Objetivo general 7
1.4.2. Objetivos específicos 7
1.5. Antecedentes de la investigación 8
2. MARCO TEÓRICO 11
2.1. La especie *Malesherbia splendens* 11
2.1.1. Origen y distribución geográfica 11
2.1.2. Taxonomía y posición sistemática 13
2.1.3. Morfología general 14
2.1.4. Usos etnobotánicos conocidos 16
2.2. Extractos vegetales 17
2.3. Selección del solvente de extracción 18
2.4. Clasificación de los metabolitos secundarios 20
2.4.1. Compuestos fenólicos 20
2.4.2. Flavonoides 20
2.4.3. Terpenoides 21
2.4.4. Alcaloides 22
2.5. Tamizaje fitoquímico 22
2.6. Radicales libres, estrés oxidativo y sistemas antioxidantes 23
2.6.1. Radicales libres 23
2.6.2. Estrés oxidativo 24
2.6.3. Antioxidantes 25
2.7. Ensayos para la determinación de la actividad antioxidante 26
2.7.1. Ensayo DPPH 26

2.7.2. Ensayo ABTS 28
2.7.3. Ensayo FRAP 28
2.7.4. Ventajas y limitaciones de los ensayos antioxidantes 29
2.8. Determinación de fenoles totales por el método de Folin–Ciocalteu 29
2.8.1. Mecanismo químico del método de Folin–Ciocalteu 29
2.8.2. Limitaciones del método de Folin–Ciocalteu 31
3. METODOLOGÍA 32
3.1. Tipo, enfoque y diseño de la investigación 32
3.2. Lugar de ejecución 32
3.3. Material biológico 32
3.3.1. Población 32
3.3.2. Muestra 32
3.3.3. Unidades experimentales 33
3.4. Variables de investigación 33
3.4.1. Variable de estudio 1 (parámetro fitoquímico) 33
3.4.2. Variable de estudio 2 (parámetro funcional) 33
3.4.3. Operacionalización de los parámetros evaluados 33
3.5. Material de laboratorio 34
3.5.1. Reactivos 34
3.5.2. Materiales 34
3.5.3. Equipos 34
3.6. Técnicas y procedimientos 34
3.6.1. Obtención del material biológico e identificación 34
3.6.2. Selección, acondicionamiento y secado del material vegetal 35
3.6.3. Obtención del extracto hidroalcohólico 36
3.7. Determinación del contenido de humedad del material vegetal 36
3.8. Determinación del rendimiento del extracto hidroalcohólico 36
3.9. Análisis fitoquímico 37
3.9.1. Alcaloides 37
3.9.2. Flavonoides 38
3.9.3. Triterpenos y esteroides 38
3.9.4. Compuestos fenólicos 39
3.9.5. Glicósidos 39
3.9.6. Quinonas 39

3.9.7. Saponinas 39
3.10. Determinación del contenido total de fenoles 40
3.10.1. Preparación de reactivos 40
3.10.2. Preparación de la curva de calibración 40
3.10.3. Preparación de las soluciones de extracto 41
3.10.4. Procedimiento analítico 41
3.10.5. Lectura espectrofotométrica 42
3.10.6. Curva de calibración y expresión de resultados 42
3.11. Evaluación de la actividad antioxidante 42
3.11.1. Preparación de reactivos 43
3.11.2 Preparación de la curva de calibración 43
3.11.3. Preparación de las soluciones de extracto 44
3.11.4. Procedimiento analítico 44
3.11.5. Lectura espectrofotométrica 45
3.11.6. Curva de calibración y expresión de resultados 45
3.12. Análisis de datos 45
3.13. Aspectos éticos 46
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 47
4.1. Resultados 47
4.1.1. Contenido de humedad del material vegetal 47
4.1.2. Rendimiento del extracto hidroalcohólico seco 47
4.1.3. Análisis fitoquímico 47
4.1.4. Contenidos de polifenoles totales en las muestras 48
4.1.5. Actividad antioxidante 49
4.2. Discusión 51
4.2.1. Eficiencia de extracción y caracterización fitoquímica 51
4.2.2. Análisis comparativo del contenido de polifenoles totales 52
4.2.3. Evaluación de la capacidad antioxidante y valor IC_{50} 53
4.2.4. Determinantes ecofisiológicos y bioquímicos de la actividad biológica 54
4.2.5. Implicancias académicas, terapéuticas y biotecnológicas 55
5. CONCLUSIONES 56
6. RECOMENDACIONES 57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 58
ANEXOS 64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Definición operacional de las variables y técnicas analíticas empleadas 33
Tabla 2. Preparación de los estándares de ácido gálico utilizados en la elaboración de la curva de calibración. 41
Tabla 3. Preparación de las soluciones estándar de Trolox para la curva de calibración del ensayo DPPH. 43
Tabla 4. Diseño experimental del ensayo DPPH para las soluciones del extracto hidroalcohólico. 44
Tabla 5. Prueba preliminar cualitativa de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Malesherbia splendens* Ricardi. 47
Tabla 6. Resultados del contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico, expresado como equivalentes de ácido gálico (n = 3). 49
Tabla 7. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico determinada por el método DPPH (n = 3). 51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica del género *Malesherbia* en el Perú, destacando *Malesherbia splendens*. 12

Figura 2. Síntesis conceptual de los factores que influyen en el proceso de extracción vegetal, elaborada a partir de la revisión de Agarwal et al. (2016). 18

Figura 3. Esquema conceptual de la relación entre el tipo de solvente de extracción y los grupos de metabolitos secundarios obtenidos, basada en Agarwal et al. (2016).....20

Figura 4. Esquema ilustrativo del principio del ensayo DPPH. 27

Figura 5. Mecanismo de reacción del método de Folin–Ciocalteu. 30

Figura 6. Curva de calibración utilizada para la determinación de polifenoles totales, mostrando la relación lineal entre la absorbancia y la concentración dentro del rango analizado. 48

Figura 7.Curva de calibración de Trolox (0.1–1.5 mM) frente al porcentaje de inhibición del radical DPPH. 50

Figura 8. Curva dosis–respuesta del extracto hidroalcohólico frente al radical DPPH..50

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el perfil fitoquímico preliminar y la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Malesherbia splendens* Ricardi (Passifloraceae), especie endémica del Perú recolectada en San Pedro de Casta, Huarochirí (3 021 m s. n. m.). El estudio se fundamenta en el uso tradicional de esta planta para el tratamiento de afecciones respiratorias como bronquitis y gripe. El extracto fue obtenido mediante maceración empleando etanol al 70 % como solvente.

El tamizaje fitoquímico cualitativo reveló una marcada presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, además de triterpenos y esteroles, así como la ausencia de alcaloides y saponinas. El análisis cuantitativo mediante el método de Folin–Ciocalteu determinó un contenido de polifenoles totales de 319 ± 4 mg GAE/g de extracto seco, valor elevado en comparación con otras especies evaluadas bajo metodologías similares.

La actividad antioxidante, evaluada mediante el ensayo DPPH, mostró una inhibición máxima del 89.75 % y un valor IC_{50} de 188 µg/mL, correspondiente a una actividad antioxidante moderada en extractos crudos vegetales. Los resultados evidencian una asociación entre el alto contenido fenólico y la capacidad de neutralización de radicales libres, aportando evidencia preliminar del potencial bioactivo de la especie y respaldando la necesidad de estudios posteriores orientados a la identificación de sus compuestos activos.

Palabras clave: *Malesherbia splendens*, polifenoles totales, actividad antioxidante, ensayo DPPH, extracto hidroalcohólico, tamizaje fitoquímico.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the preliminary phytochemical profile and antioxidant activity of the hydroalcoholic extract obtained from the aerial parts of *Malesherbia splendens* Ricardi (Passifloraceae), an endemic Peruvian species collected in San Pedro de Casta, Huarochirí (3,021 m a.s.l.). The research was based on the traditional use of this plant for the treatment of respiratory conditions such as bronchitis and influenza. The extract was obtained by maceration using 70% ethanol as the solvent.

Qualitative phytochemical screening revealed a marked presence of flavonoids and phenolic compounds, along with triterpenes and sterols, as well as the absence of alkaloids and saponins. Quantitative analysis using the Folin–Ciocalteu method determined a total polyphenol content of 319 ± 4 mg GAE/g of dry extract, representing a relatively high value compared to other species evaluated under similar methodologies.

Antioxidant activity, assessed using the DPPH assay, showed a maximum inhibition of 89.75% and an IC_{50} value of 188 µg/mL, corresponding to a moderate antioxidant activity in crude plant extracts. The results indicate an association between high phenolic content and free radical scavenging capacity, providing preliminary evidence of the species' bioactive potential and supporting the need for further studies aimed at identifying its active compounds.

Keywords: *Malesherbia splendens*, hydroalcoholic extract, total polyphenols, antioxidant activity, DPPH assay, phytochemical screening.

INTRODUCCIÓN

La generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) constituye un proceso inherente al metabolismo celular y cumple funciones fisiológicas esenciales en los sistemas biológicos. No obstante, cuando se produce un desbalance entre la producción de estas especies y los mecanismos de defensa antioxidante, se establece el denominado estrés oxidativo, fenómeno asociado con el daño a lípidos, proteínas y ADN, lo que puede alterar la estructura y función celular. Este daño ha sido asociado con la patogénesis de diversas enfermedades crónicas, como enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y cáncer, así como con los procesos de envejecimiento (Birben et al., 2012; Jomova et al., 2023).

Frente a ello, ha surgido un creciente interés por estrategias orientadas a reducir el daño oxidativo mediante el uso de antioxidantes de origen dietario y productos naturales. En particular, se ha resaltado el papel de los metabolitos secundarios de origen vegetal, especialmente los compuestos fenólicos, debido a su capacidad reductora y a su contribución a la actividad antioxidante descrita en numerosos extractos de plantas (Núñez, 2011; Coronado et al., 2015).

Entre los antioxidantes naturales se encuentran los polifenoles, que incluyen flavonoides, taninos y otros compuestos fenólicos, los cuales destacan por su presencia en frutas, vegetales y diversas especies medicinales; así como por su relevancia en estudios orientados a la salud humana y la funcionalidad biológica. Aun cuando su efecto depende de factores como la matriz vegetal, el tipo de preparación y la biodisponibilidad, la cuantificación del contenido fenólico total constituye un indicador útil para aproximarse al potencial antioxidante de un extracto y para comparar especies, condiciones de extracción o partes de la planta (Coronado et al., 2015).

Diversos estudios han señalado que el estrés oxidativo participa en procesos inflamatorios asociados a enfermedades respiratorias debido a la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno y al daño oxidativo generado en las vías respiratorias y tejidos pulmonares. En este contexto, los flavonoides y polifenoles presentes en plantas medicinales han despertado interés por su capacidad antioxidante y su posible contribución en la neutralización de radicales libres asociados a estos procesos (Birben et al., 2012; Albano et al., 2022; Jomova et al., 2023). Por ello, la detección de actividad antioxidante en especies utilizadas tradicionalmente para afecciones respiratorias, como *Malesherbia splendens* Ricardi, podría aportar información relevante sobre su potencial biológico.

En el ámbito peruano, el uso de plantas medicinales constituye un componente importante de la medicina tradicional y su investigación aporta información valiosa tanto para el conocimiento científico como para el aprovechamiento responsable de la biodiversidad. Estudios etnobotánicos en Perú han documentado un número elevado de especies utilizadas en la práctica tradicional, especialmente para trastornos respiratorios, evidenciando además la diversidad de familias botánicas empleadas, los órganos vegetales preferidos y los modos de preparación (Bussmann & Glenn, 2010). Este panorama refuerza la necesidad de fortalecer investigaciones que articulen el conocimiento local con evaluaciones químicas y biológicas que permitan sustentar y comparar el potencial de especies nativas.

Dentro de la flora peruana, el género *Malesherbia* (familia Passifloraceae *sensu lato*) presenta un interés particular por su condición de endemismo y su distribución en regiones ecológicas específicas. Se ha reportado la presencia de taxones endémicos en ambientes mesoandinos y de matorral/desierto, con registros altitudinales amplios; además, se ha señalado que estas especies no se encuentran representadas en el sistema nacional de áreas naturales protegidas, lo que incrementa la relevancia de su estudio y documentación

científica (León, 2006). En particular, *Malesherbia splendens* Ricardi se describe como un subarbusto asociado a la cuenca del río Lurín, con rango restringido y amenazas potenciales ligadas a la modificación del hábitat, lo que la convierte en una especie de especial interés desde una perspectiva de biodiversidad y generación de conocimiento (León, 2006).

En este marco, el presente trabajo busca contribuir al conocimiento de *Malesherbia splendens* Ricardi mediante la caracterización de su perfil fitoquímico y la evaluación de su actividad antioxidante a partir de un extracto hidroalcohólico. El análisis conjunto del contenido de metabolitos secundarios y de la capacidad antioxidante del extracto permite aportar información útil para la comparación con otras especies, orientar futuras investigaciones y fortalecer la base científica disponible sobre recursos vegetales endémicos del Perú.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

El Perú es reconocido como uno de los países megadiversos del mundo, gracias a su gran variedad de ecosistemas, especies y recursos genéticos. Esta diversidad ha permitido el desarrollo de más de 4,000 plantas medicinales con usos tradicionales, empleadas por diversas culturas originarias con fines alimenticios, ornamentales, industriales y medicinales (Brack, 2000). Todo este conocimiento local representa una valiosa fuente para la investigación científica y el aprovechamiento sostenible. Sin embargo, a pesar de esta gran diversidad, aún existen pocos estudios que analicen las propiedades fitoquímicas de muchas plantas medicinales comercializadas en los mercados de Lima, lo que limita el respaldo científico sobre su eficacia y seguridad de uso.

Un ejemplo representativo de las plantas medicinales aprovechadas ancestralmente por comunidades locales para el consumo y venta es *Malesherbia splendens*, una especie perteneciente a la familia Passifloraceae *sensu lato* (Angiosperm Phylogeny Group, 2016). Esta planta, conocida localmente como “moro” o “verónica”, es un subarbusto con flores de color verdoso-amarillento que crece en zonas áridas de gran altitud. Se encuentra distribuida en la región central andina del Perú, abarcando cuencas hidrográficas de Áncash, Lima, Junín, Huancavelica, Ayacucho y Apurímac, lo que evidencia una distribución amplia pero restringida a los valles interandinos áridos del centro del país (Beltrán et al., 2018). En registros previos, León (2006) reportó su presencia en la cuenca del río Lurín (Lima), destacando su hábitat reducido y el tamaño pequeño de sus poblaciones.

Aunque la información científica sobre *Malesherbia splendens* es aún limitada, se ha registrado de forma puntual su uso tradicional en comunidades andinas del Perú para el tratamiento de afecciones respiratorias, según lo reportado en estudios de cribado etnobotánico de plantas medicinales peruanas (Quispe et al., 2017). Sin embargo, la

evidencia disponible sobre su composición fitoquímica y su actividad biológica específica es aún escasa, debido a la limitada información reportada en bases de datos científicas y repositorios académicos. Esta situación limita su nivel de caracterización dentro del conocimiento botánico y farmacológico nacional.

En este contexto, evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* resulta pertinente, ya que el estrés oxidativo participa en el daño celular asociado a diversas enfermedades respiratorias, como la bronquitis o el asma. Según Rogers y Cismowski (2018), el desequilibrio entre los sistemas oxidantes y antioxidantes en el pulmón favorece la inflamación y el deterioro del tejido respiratorio. En este sentido, los compuestos con actividad antioxidante pueden contribuir a reducir los procesos inflamatorios y proteger las células de las vías respiratorias, proporcionando una base científica potencial para sustentar el uso tradicional de esta planta en afecciones respiratorias. Por ello, el presente estudio se enfocará en realizar un análisis del perfil fitoquímico y en evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens*, recolectados en el distrito de San Pedro de Casta, provincia de Huarochirí, Lima.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es el perfil fitoquímico preliminar y la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* Ricardi, recolectada en la región central del Perú?

1.2.2. Problemas específicos

¿Qué grupos de metabolitos secundarios están presentes en el extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* según la marcha fitoquímica preliminar?

¿Cuál es el contenido total de compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* determinado mediante el método de Folin–Ciocalteu?

¿Cuál es la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* evaluada a diferentes concentraciones mediante el método DPPH (porcentaje de inhibición y CI_{50})?

1.3. Justificación e importancia de la investigación

Las afecciones respiratorias constituyen un problema global de salud pública que se ha intensificado en las últimas décadas, impulsado por factores como la contaminación ambiental, el tabaquismo, la pobreza y el hacinamiento. Esta situación se agrava aún más por la creciente resistencia a los antibióticos, lo que dificulta la aplicación de tratamientos efectivos (Forum of International Respiratory Societies [FIRS], 2021). Ante esta situación, las plantas medicinales se posicionan como una alternativa prometedora, debido a que constituyen una fuente importante de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, los cuales presentan diversos mecanismos de acción frente a microorganismos patógenos y, por ello, poseen potencial para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos (Keita et al., 2022; Bouyahya et al., 2022).

En el Perú, diversas especies vegetales nativas son empleadas tradicionalmente para aliviar afecciones de las vías respiratorias, lo cual ha sido ampliamente documentado en estudios etnobotánicos realizados en comunidades andinas (Bussmann & Glenn, 2010; Quispe et al., 2017). Sin embargo, muchas de estas especies aún carecen de estudios fitoquímicos y de actividad biológica que respalden su eficacia. Entre ellas se encuentra *Malesherbia splendens* Ricardi, una especie mencionada en la literatura reciente de plantas medicinales peruanas como utilizada para bronquitis (Quispe et al., 2017). Asimismo, durante una expedición botánica realizada en San Pedro de Casta (Huarochirí, Lima) con

fines académicos en el 2024, pobladores locales refirieron el uso tradicional *de Malesherbia splendens* en forma de infusión para aliviar la gripe y otros malestares respiratorios, lo que confirma su uso en el conocimiento tradicional de la zona.

Bajo el enfoque de diversidad biocultural planteado por Salas (2018), resulta necesario documentar estas prácticas locales, pues evidencian la estrecha relación entre comunidad y biodiversidad andina. En este marco, el estudio de *M. splendens* es pertinente no solo para revalorar el saber tradicional, sino también para generar información científica sobre una especie de distribución restringida y poco estudiada.

El análisis fitoquímico preliminar y la evaluación de su actividad antioxidante permitirán identificar los metabolitos secundarios presentes y establecer su posible relación con el uso popular en afecciones respiratorias. De este modo, la investigación contribuirá a ampliar el conocimiento botánico y farmacológico sobre *Malesherbia splendens,* una especie peruana poco estudiada, constituyendo la base para futuras investigaciones farmacológicas y para la eventual formulación de productos naturales seguros.

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. Objetivo general

Determinar el perfil fitoquímico preliminar y la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* Ricardi, especie andina endémica del departamento de Lima, mediante métodos cualitativos y cuantitativos.

1.4.2. Objetivos específicos

Realizar la marcha fitoquímica preliminar para identificar los grupos de compuestos bioactivos presentes en el extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens.*

Cuantificar el contenido total de compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico mediante el método de Folin-Ciocalteu.

Evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens,* ensayado a diferentes concentraciones, mediante el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), expresada como porcentaje de inhibición del radical DPPH y valor CI_{50}.

1.5. Antecedentes de la investigación

Beltrán et al. (2018), realizaron un estudio taxonómico del género *Malesherbia* (Passifloraceae) en el Perú. El objetivo del estudio fue presentar una revisión taxonómica actualizada del género *Malesherbia* en el país, incluyendo nuevos registros y datos de distribución. Respecto a la metodología, los autores analizaron especímenes de herbario y realizaron observaciones de campo para documentar la presencia y características de las especies. Las conclusiones destacaron la identificación de 15 taxones de *Malesherbia* en el país, incluyendo un nuevo registro, *Malesherbia auristipulata*, y proporcionaron datos sobre su distribución departamental y rango altitudinal. El aporte de la investigación corresponde a proporcionar una base taxonómica sólida para futuras investigaciones sobre este género en el Perú.

En los registros etnobotánicos consultados, *Malesherbia splendens* se menciona como especie silvestre presente en la sierra central del Perú, pero no se describen usos medicinales asociados a esta especie en particular (Gamarra, 2012). En cambio, sí existen reportes de uso medicinal para otras especies del mismo género, como *Malesherbia ardens*, empleada tradicionalmente para afecciones respiratorias en el norte del país. Esta situación evidencia un vacío específico de información etnobotánica sobre *M. splendens* y refuerza la pertinencia de estudiarla.

Quispe et al. (2017) reportaron el uso tradicional de *Malesherbia splendens* Ricardi (Passifloraceae) para el tratamiento de bronquitis, dentro de un estudio de cribado de plantas medicinales peruanas orientado a la evaluación de la actividad inhibitoria de la enzima tirosinasa. Aunque el estudio se centró en la evaluación enzimática y no en la caracterización fitoquímica de la especie, su inclusión confirma el reconocimiento etnomédico de *M. splendens* y respalda la pertinencia de investigar su perfil fitoquímico y su potencial bioactivo

Bussmann y Glenn (2010) realizaron en el Perú un estudio cuyo objetivo fue documentar las especies vegetales utilizadas tradicionalmente en el norte del país para tratar enfermedades respiratorias. Respecto a la metodología, se aplicó un enfoque etnobotánico en comunidades locales, registrando 91 especies pertenecientes a 82 géneros y 48 familias. Las conclusiones indicaron que se emplean tanto especies indígenas como introducidas, y que cerca del 50% ya han sido estudiadas por sus propiedades medicinales. Se reportó el uso tradicional de *Malesherbia ardens* en infusión para tratar afecciones respiratorias como resfriado, tos, bronquitis y asma. El aporte de la investigación consiste en ofrecer una base etnobotánica útil que, aunque no aborda directamente la especie de interés, incluye una del mismo género, lo que sugiere posibles propiedades medicinales similares.

Si bien los estudios sobre el género *Malesherbia* aún son escasos, dentro de la misma familia Passifloraceae existen especies ampliamente investigadas por su composición fitoquímica y su relevancia farmacológica. Un ejemplo destacado es *Passiflora edulis*, especie emparentada con *Malesherbia*, cuyos estudios han sido sintetizados por Campos-Rodríguez (2023) en una revisión reciente. El autor describe una abundancia de metabolitos secundarios —como flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, alcaloides y carotenoides— responsables de las reconocidas actividades antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana de esta planta. Este antecedente evidencia que, en el marco de la familia

Passifloraceae, la presencia de compuestos fenólicos se asocia estrechamente con la capacidad antioxidante, lo cual refuerza la hipótesis de que *Malesherbia splendens* Ricardi podría presentar un comportamiento fitoquímico y biológico similar, constituyéndose en una potencial fuente natural de compuestos con actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana.

Erazo (2006), en Chile, desarrolló un estudio experimental con el propósito de identificar los metabolitos activos y evaluar la actividad biológica de *Malesherbia auristipulata*, especie perteneciente al mismo género de interés del presente proyecto. Para ello, realizó extracciones sucesivas con solventes de distinta polaridad, seguidas de ensayos farmacológicos *in vivo* para determinar la actividad antiinflamatoria y analgésica, además de pruebas químicas destinadas a detectar compuestos fenólicos. Entre los metabolitos aislados se identificaron β-sitosterol y kaempferol, compuestos ampliamente reconocidos por sus propiedades farmacológicas. El autor observó que el extracto diclorometánico fue el único que presentó actividad antioxidante significativa, evidenciando la presencia de metabolitos secundarios con potencial terapéutico en el género *Malesherbia*.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. La especie *Malesherbia splendens*

2.1.1. Origen y distribución geográfica

Malesherbia splendens Ricardi es una especie nativa del Perú, descrita originalmente a partir de material procedente del departamento de Lima. Según la descripción original de Ricardi (1965), la especie corresponde a un sufrútice propio de regiones secas y pedregosas de las vertientes occidentales de los Andes del Perú central, con distribución posiblemente muy restringida.

Los ejemplares tipo y el material adicional estudiado por el autor provienen de la provincia de Huarochirí, distrito de Langa, donde la especie habita en cerros rocosos y escarpados. Estudios posteriores confirman que *M. splendens* es conocida únicamente de la cuenca del río Lurín, en el departamento de Lima, presentándose a altitudes comprendidas entre los 2100 y 3000 m s. n. m. (Beltrán et al., 2018).

En conjunto, la evidencia disponible indica que *M. splendens* es un taxón endémico del centro del Perú, asociado a ambientes áridos y semiáridos, con un rango de distribución geográfica reducido. Este patrón de distribución restringida también se observa en otras especies de *Malesherbia*, como la recientemente descrita *Malesherbia anxia*, que habita en ambientes similares en los valles áridos del departamento de Lima, pero en áreas geográficas separadas (Chávez-Corcuera et al., 2024).

Así, *M. splendens* y otras especies endémicas de la región, como *M. anxia*, representan casos claros de especiación alopátrica, con distribuciones limitadas a zonas específicas de los Andes, lo que resalta la importancia de los factores ecológicos y climáticos en la diversificación del género.

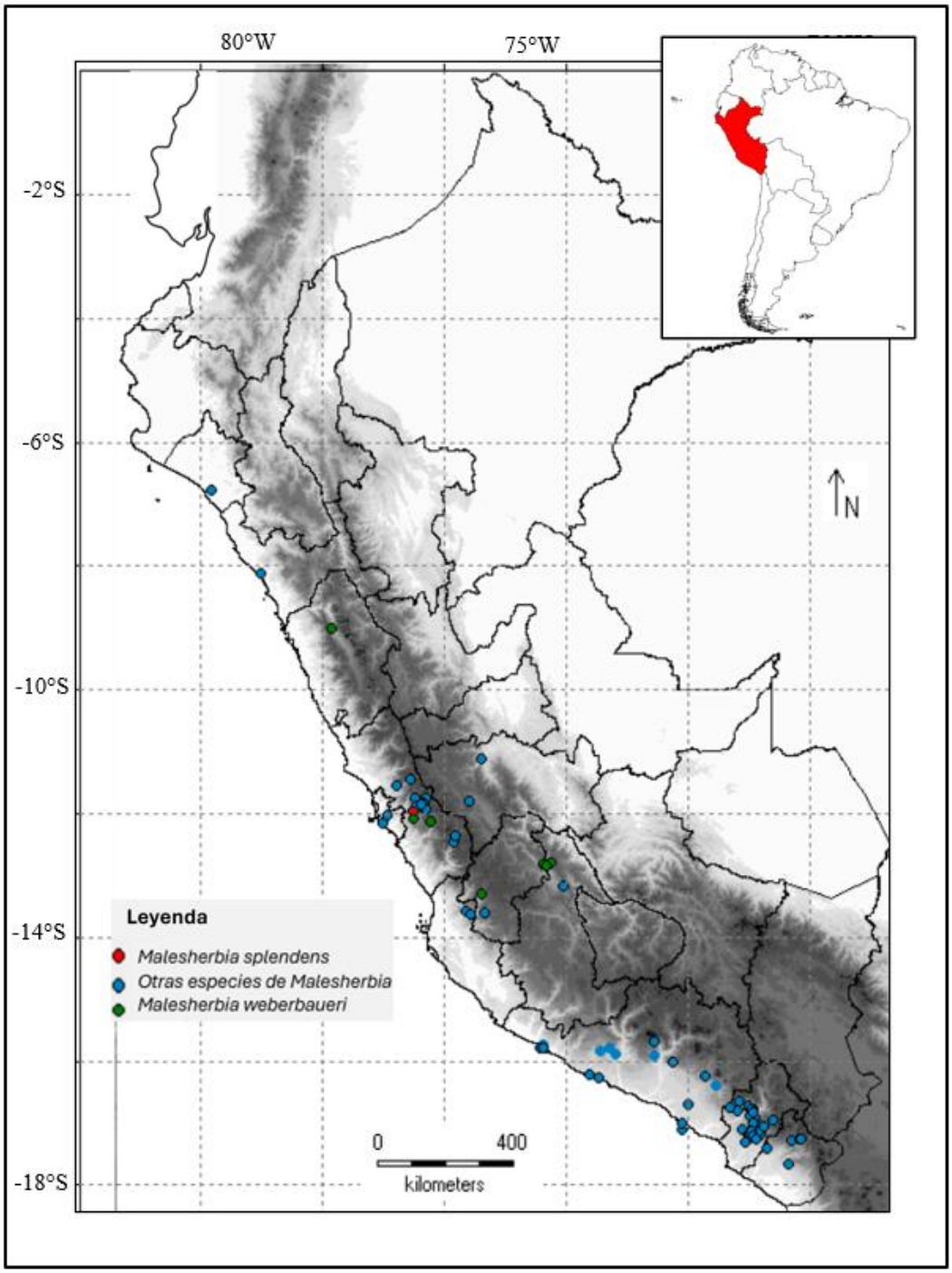


Figura 1. Distribución geográfica del género *Malesherbia* en el Perú, destacando *Malesherbia splendens.*

El mapa se elaboró a partir de registros de ocurrencia obtenidos de la base de datos Global Biodiversity Information Facility (GBIF). Los puntos representan registros georreferenciados de especies del género *Malesherbia* reportadas para el país; *Malesherbia weberbaueri* incluye registros correspondientes a taxones infraespecíficos.

Fuente: Elaboración propia.

2.1.2. Taxonomía y posición sistemática

Malesherbia splendens Ricardi fue descrita originalmente en 1965 a partir de material procedente del departamento de Lima, Perú. La especie fue diferenciada de otras congéneres principalmente por el notable desarrollo del receptáculo floral, la longitud de las brácteas y hojas, así como por la gran magnitud de los racimos terminales, caracteres considerados diagnósticos por su autor (Ricardi, 1965).

La especie pertenece al género *Malesherbia*, un linaje endémico de Sudamérica cuya posición taxonómica ha sido objeto de discusión histórica. Tradicionalmente, el género fue tratado como el único representante de la familia Malesherbiaceae. Sin embargo, estudios filogenéticos moleculares han demostrado una estrecha relación entre Malesherbiaceae y Turneraceae, basada en datos de ADN cloroplastidial (rbcL) y nuclear (ITS), lo que ha llevado a la inclusión de este linaje dentro de Passifloraceae *sensu lato (*Fay et al., 1997; -Nowak, 2003).

Análisis filogenéticos basados en secuencias ITS han evidenciado una fuerte correspondencia entre la filogenia del grupo y su distribución geográfica, indicando que *Malesherbia* constituye un linaje monofilético adaptado a ambientes áridos de la vertiente occidental de los Andes. Estos estudios sugieren que el género se originó durante el Mioceno tardío o el Plioceno temprano, en un contexto de aridificación progresiva de la región, con posteriores eventos de diversificación asociados a fluctuaciones climáticas del Pleistoceno (Gengler-Nowak, 2003).

En este marco evolutivo, *Malesherbia splendens* forma parte de un clado de especies peruanas caracterizado por distribuciones geográficas restringidas. Gengler y Crawford (2000), al evaluar la diversidad genética de cuatro especies endémicas del género en los valles áridos interandinos del Perú, reportaron que *M. splendens* presenta bajos valores de número promedio de alelos por locus, proporción de loci polimórficos y heterocigosidad

esperada. Estos resultados concuerdan con su rango de distribución reducido y la existencia de poblaciones pequeñas y aisladas.

Asimismo, la baja divergencia genética observada entre *M. splendens* y especies cercanas, junto con su limitada variabilidad alélica, sugiere un origen evolutivo relativamente reciente, posiblemente asociado a eventos fundadores y cuellos de botella poblacionales, en concordancia con los patrones de especiación alopátrica propuestos para el género en los Andes centrales (Gengler & Crawford, 2000).

2.1.3. Morfología general

Según la descripción original de Ricardi (1965), *Malesherbia splendens* presenta un conjunto de caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos que permiten su diferenciación de otras especies del género. A continuación, se describen los principales rasgos morfológicos de la especie.

Hábito y tallo. *Malesherbia splendens* es un sufrútice erecto que alcanza entre 1,5 y 2 m de altura, con tronco leñoso, desnudo y cicatricoso en la base, y con ramificación superior un tanto abierta. Los tallos y ramas presentan una densa pubescencia hirsuta y glandulosa, constituida por pelos unicelulares de color cróceo y pelos glandulares conspicuos.

Hojas. Las hojas son alternas, sésiles y subcarnosas, densamente hirsutas, de forma lanceolada. Las hojas basales son notablemente mayores que las superiores, disminuyendo progresivamene de tamaño hacia la inflorescencia. El margen foliar es crenado o aserrado, con dientes poco profundos provistos de pelos glandulosos a modo de cilios. La nervadura es hundida en el haz y prominente en el envés.

Estípulas. Las estípulas son dos, hirsutas y trifidas, con segmentos desiguales y margen subdentado, densamente ciliado por pelos glandulosos gruesos. El segmento superior es el más desarrollado, de aproximadamente 10–12 mm de longitud, seguido por un

segmento mediano de 5–6 mm y un segmento inferior de 2–3 mm, lo que constituye un carácter morfológico distintivo de la especie.

Inflorescencia. La inflorescencia es un racimo simple, largo y denso, que puede alcanzar hasta 55 cm de longitud, ubicado en el extremo de las ramas. Las flores se disponen en la axila de hojas reducidas y persistentes, cada una sostenida por pedúnculos de 15-25 mm de largo. Estos pedúnculos están provistos de dos brácteas lanceoladas, de 30-50 mm de largo y 5-6 mm de ancho, que se encuentran insertadas en el ápice, así como de estípulas bífidas, linear-lanceoladas, de 4-4.2 mm de largo en el segmento superior y de 2-2.2 mm en el segmento inferior, todas cubiertas de pelos glandulosos.

Flor. Las flores presentan un receptáculo obcónico-tubuloso, notablemente desarrollado, ligeramente ensanchado hacia la parte media y algo contraído a nivel de la garganta, con longitudes que oscilan entre 38 y 50 mm y un ancho de 8–12 mm en su porción central. El receptáculo es de color amarillo-verdoso, densamente hirsuto en la superficie externa y esparcidamente pubescente en la superficie interna.

Perianto. El perianto está constituido por cinco sépalos y cinco pétalos, todos angostamente triangulares y acuminados. Los sépalos miden aproximadamente 9–10 mm de largo por cerca de 4 mm de ancho basal, presentan una densa pubescencia en ambas caras y terminan en un conspicuo pelo glanduloso apical. Los pétalos son ligeramente menores, con longitudes de 6–7 mm y un ancho basal cercano a 1,5 mm, también densamente hirsutos y de color verde pálido. La corona es hialina, de aproximadamente 3 mm de altura, con margen eroso.

Androceo. El androceo está conformado por cinco estambres exertos, con filamentos largos y delgados, de 45–48 mm de longitud, y anteras de aproximadamente 5–5,2 mm de largo. El androginóforo alcanza entre 8 y 9 mm de altura, esparcidamente hirsuto y notablemente ensanchado y densamente pubescente en el ápice.

Gineceo. El gineceo presenta un ovario columniforme, ligeramente ensanchado hacia el ápice, de 9–10 mm de altura y cerca de 2 mm de diámetro, cubierto por pubescencia hirsuta. Los estilos son tres, insertos casi en el ápice del ovario, con longitudes de 50–52 mm, sobrepasando claramente a los estambres. Los estigmas son pequeños, obcónicos y finamente papilosos.

Fruto y semillas. El fruto corresponde a una cápsula claviforme, aguda en el ápice, dehiscente por tres valvas que se abren desde el ápice hasta la inserción de los estilos. En el material original examinado por Ricardi (1965), los frutos fueron observados únicamente en estado inmaduro. Las semillas, también inmaduras, son numerosas y presentan una superficie foveolada, con finas costillas longitudinales y transversales.

2.1.4. Usos etnobotánicos conocidos

En el Perú, los estudios etnobotánicos han documentado el empleo tradicional de diversas plantas medicinales utilizadas para afecciones respiratorias. No obstante, la información específica disponible sobre *Malesherbia splendens* Ricardi es escasa. Entre los pocos registros existentes, Quispe et al. (2017) reportaron su uso tradicional en el tratamiento de bronquitis bajo el nombre común “Veronica”.

Asimismo, revisiones etnobotánicas sobre plantas empleadas en comunidades andinas para afecciones del sistema respiratorio indican que especies del género *Malesherbia* forman parte de repertorios tradicionales utilizados para aliviar síntomas como tos, resfriados y bronquitis, generalmente mediante preparaciones en infusión o decocción (Bussmann & Glenn, 2010).

Adicionalmente, *M. splendens* ha sido registrada en estudios etnobotánicos locales como una especie apta para uso forrajero, lo que evidencia su aprovechamiento tradicional

en actividades rurales, aun cuando los usos medicinales específicos no se encuentren ampliamente documentados (Gamarra, 2012).

2.2. Extractos vegetales

La extracción vegetal es el proceso mediante el cual los constituyentes activos o compuestos de interés son extraídos del material vegetal empleando solventes seleccionados en los cuales dichas sustancias son solubles. Como resultado de este proceso se obtienen extractos vegetales, los cuales contienen compuestos químicos solubilizados a partir de los tejidos de la planta y constituyen una forma común de trabajo en estudios fitoquímicos. (Saravanabavan et al., 2020).

En el análisis fitoquímico, la obtención de extractos a partir del material vegetal representa una etapa fundamental, ya que permite recuperar los compuestos químicos de interés para su posterior separación y caracterización (Sasidharan et al., 2011). Por su parte, Harborne (1998) señala que el método de extracción debe seleccionarse en función de las características del tejido vegetal, como la textura y el contenido de agua, así como del tipo de sustancias que se desea aislar, factores que influyen directamente en la eficiencia del proceso extractivo

Los procedimientos de extracción vegetal conducen generalmente a la obtención de extractos crudos, los cuales contienen mezclas de distintos compuestos químicos. Durante estos procesos rara vez se logra una separación completa de los constituyentes, por lo que un mismo compuesto puede recuperarse en diferentes fracciones, lo que refleja la complejidad química inherente al material vegetal (Harborne, 1998).

Asimismo, en el ámbito del aislamiento de productos naturales, se reconoce que los extractos crudos obtenidos a partir de matrices biológicas presentan una composición compleja, lo que hace necesario, en etapas posteriores, la aplicación de procesos de

fraccionamiento y aislamiento para la obtención de compuestos individuales (Sarker & Nahar, 2012). De este modo, los extractos vegetales constituyen el punto de partida para estudios fitoquímicos orientados a la caracterización química y biológica de especies vegetales (Sasidharan et al., 2011).

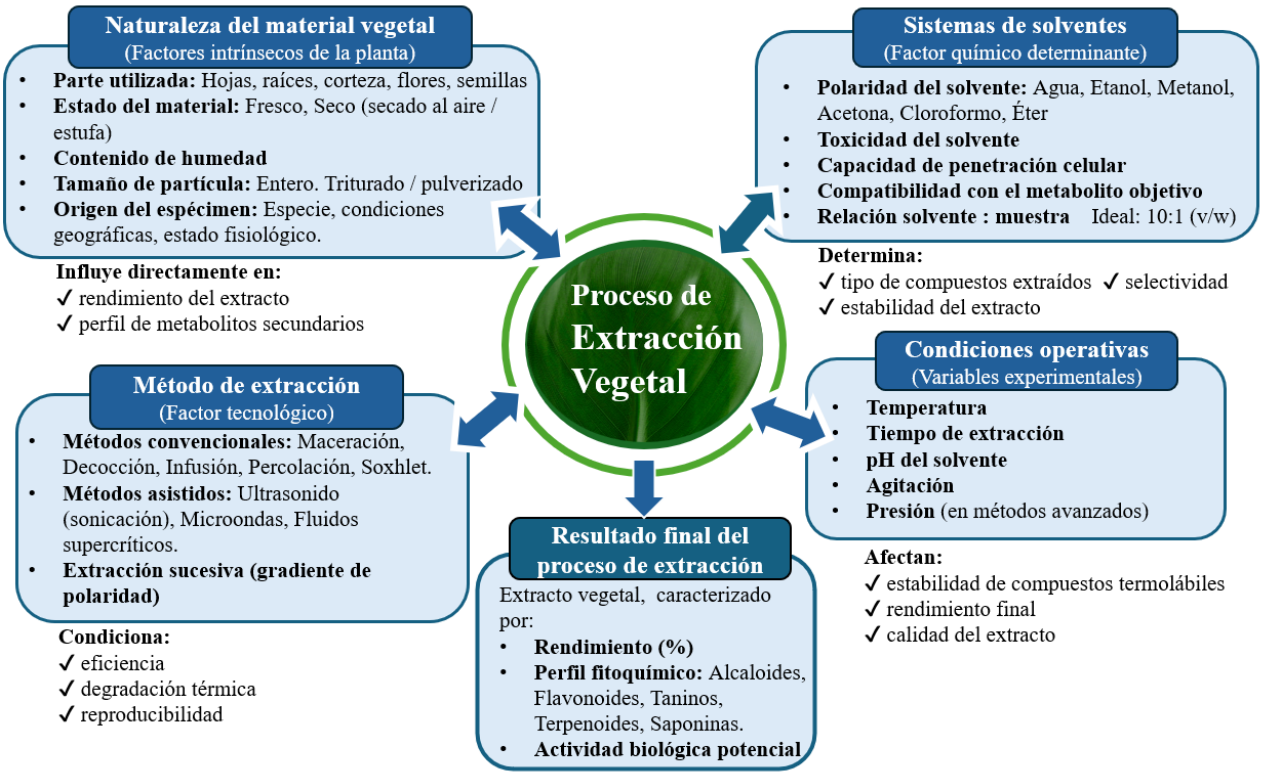


Figura 2. Síntesis conceptual de los factores que influyen en el proceso de extracción vegetal, elaborada a partir de la revisión de Agarwal et al. (2016).

2.3. Selección del solvente de extracción

La selección del solvente constituye un aspecto fundamental en los procesos de extracción vegetal, ya que el tipo de solvente utilizado determina la obtención de los ingredientes farmacológicamente activos a partir del material vegetal. Agarwal et al. (2016) señalan que la elección de un solvente adecuado depende del compuesto que se desea aislar, así como de diversos factores relacionados con el proceso extractivo, tales como la cantidad

de fitocompuestos a remover, la velocidad de extracción y la facilidad de manejo del extracto obtenido.

Harborne (1998) indica que el modo de extracción y el solvente empleado dependen de las características del material vegetal, como la textura y el contenido de agua, así como del tipo de sustancias que se desea aislar. En este contexto, el autor describe el empleo de diferentes solventes en función de los compuestos presentes en la planta, lo que permite disponer de extractos utilizados como punto de partida en estudios fitoquímicos.

Asimismo, Agarwal et al. (2016) mencionan que en los procesos de extracción vegetal se emplea una variedad de solventes, entre los que se incluyen agua, etanol, metanol, acetona, éter y cloroformo, los cuales permiten la obtención de distintos tipos de extractos. Por su parte, Harborne (1998) señala que el alcohol puede considerarse un solvente de uso general en extracciones preliminares; sin embargo, durante estos procesos rara vez se logra una separación completa de los constituyentes, por lo que se obtienen extractos crudos que contienen mezclas de compuestos químicos.

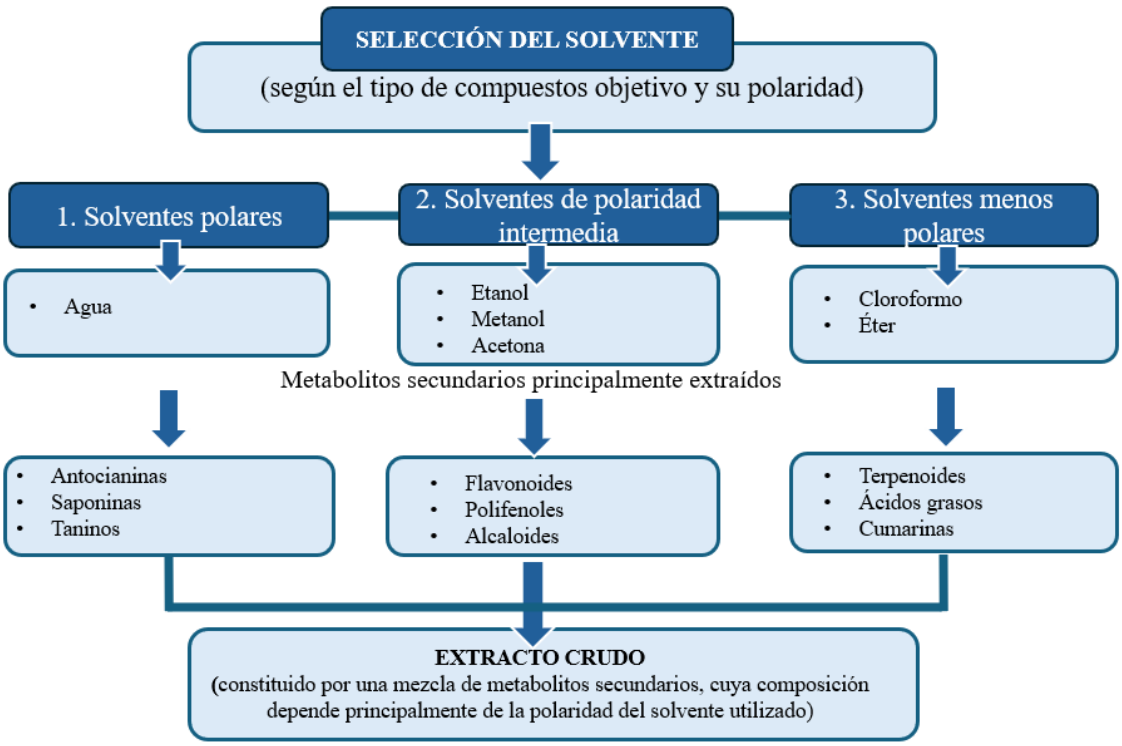


Figura 3. Esquema conceptual de la relación entre el tipo de solvente de extracción y los grupos de metabolitos secundarios obtenidos, basada en Agarwal et al. (2016).

2.4. Clasificación de los metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios de origen vegetal se clasifican tradicionalmente de acuerdo con sus rutas biosintéticas, reconociéndose como principales grupos los compuestos fenólicos, los terpenoides y los alcaloides, los cuales constituyen las familias más representativas de metabolitos secundarios descritas en plantas (Bourgaud et al., 2001).

2.4.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen una de las familias más ampliamente distribuidas de metabolitos secundarios en plantas superiores. Estos compuestos se caracterizan por presentar estructuras aromáticas con uno o más grupos hidroxilo y se encuentran presentes en la mayoría de las plantas debido a su participación en procesos fundamentales como la síntesis de lignina (Bourgaud et al., 2001).

Desde el punto de vista molecular, los compuestos fenólicos poseen uno o varios grupos hidroxilo capaces de establecer enlaces de hidrógeno e interacciones iónicas con proteínas y otras macromoléculas. Estas interacciones pueden afectar la estructura y la función de las proteínas, dando lugar a efectos biológicos amplios y no específicos, lo que explica la diversidad de actividades atribuidas a los polifenoles presentes en plantas y productos herbales (Wink, 2015).

2.4.2. Flavonoides

Los flavonoides constituyen una subclase importante de los compuestos fenólicos y corresponden a metabolitos secundarios de origen vegetal con estructura polifenólica, ampliamente distribuidos en frutas, verduras y otros tejidos de las plantas (Panche et al., 2016). Estos compuestos se caracterizan por presentar una estructura básica formada por dos

anillos aromáticos unidos por un heterociclo, lo que da lugar a una notable diversidad estructural dentro de este grupo de metabolitos.

Dentro de los flavonoides se reconocen diversos subgrupos estructurales, entre los que se incluyen flavonas, flavonoles, flavanonas, isoflavonas, antocianinas y chalconas, cuya clasificación se basa en el grado de insaturación y oxidación del anillo central.

Los flavonoides han sido ampliamente estudiados debido a sus múltiples actividades biológicas. Diversos trabajos señalan que estos compuestos presentan propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y anticancerígenas, atribuidas a su capacidad para neutralizar radicales libres y participar en la modulación de funciones celulares clave.

2.4.3. Terpenoides

Los terpenoides constituyen uno de los grupos más numerosos de metabolitos secundarios de origen vegetal. Estas moléculas se caracterizan por derivar biosintéticamente del isopentenil pirofosfato (IPP) y por presentar como unidad estructural básica al isopreno, razón por la cual también son denominadas isoprenoides (Ringuelet & Viña, 2013). Desde el punto de vista químico, los terpenoides son compuestos mayoritariamente liposolubles, solubles en solventes orgánicos, y pueden encontrarse localizados en distintos compartimentos celulares o asociados a estructuras secretoras especializadas, tales como tricomas glandulares, cavidades secretoras y conductos resiníferos.

La clasificación de los terpenoides se realiza en función del número de unidades de isopreno presentes en su estructura. En este sentido, se reconocen grupos como monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30) y tetraterpenos (C40), entre otros, cada uno con características estructurales y funciones biológicas particulares en las plantas. Asimismo, a los terpenoides se les atribuye un amplio rango de roles fisiológicos y ecológicos, incluyendo su participación en mecanismos de

defensa, en la interacción con otros organismos y en la generación del aroma característico de numerosas especies vegetales, especialmente aquellos que forman parte de los aceites esenciales (Ringuelet & Viña, 2013).

2.4.4. Alcaloides

Los alcaloides constituyen una familia de metabolitos secundarios nitrogenados cuya distribución en el reino vegetal es más restringida en comparación con otros grupos de metabolitos. Estos compuestos suelen encontrarse asociados a géneros o especies vegetales específicas y presentan una notable diversidad estructural (Bourgaud et al., 2001).

Los alcaloides se caracterizan por presentar una elevada actividad biológica y desempeñan principalmente funciones defensivas en las plantas, actuando como sustancias tóxicas o disuasorias frente a herbívoros y microorganismos. Debido a estas propiedades, numerosos alcaloides han sido ampliamente estudiados por su relevancia farmacológica (Wink, 2015).

Los alcaloides ejercen sus efectos biológicos mediante la interacción con blancos moleculares específicos, tales como receptores neuronales, canales iónicos y enzimas implicadas en la transmisión de señales celulares. Muchos de estos compuestos modulan procesos fisiológicos al interferir con sistemas de neurotransmisión o con rutas celulares esenciales, lo que explica tanto su toxicidad como su utilidad farmacológica. Esta diversidad de mecanismos de acción refleja la complejidad funcional de los alcaloides y sustenta su importancia dentro del metabolismo secundario vegetal (Wink, 2015).

2.5. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico forma parte de las etapas iniciales del análisis fitoquímico y se aplica a extractos vegetales con el objetivo de obtener una visión general de la naturaleza

química de los compuestos presentes. Dado que la fitoquímica se ocupa del estudio de la amplia diversidad de sustancias orgánicas producidas por las plantas, resulta necesario emplear métodos de detección preliminar que permitan reconocer, de manera cualitativa, los principales grupos de metabolitos secundarios antes de realizar procedimientos más detallados de separación, purificación e identificación (Harborne, 1998).

Considerando que los extractos vegetales corresponden a mezclas complejas de constituyentes químicos, el tamizaje fitoquímico cumple una función orientadora dentro del estudio fitoquímico. La información obtenida a partir de estas pruebas cualitativas permite establecer un primer perfil de la composición del extracto y sirve de base para planificar etapas posteriores de fraccionamiento, aislamiento e identificación de metabolitos secundarios (Harborne, 1998).

2.6. Radicales libres, estrés oxidativo y sistemas antioxidantes

2.6.1. Radicales libres

Los radicales libres se definen como especies químicas que poseen uno o más electrones desapareados en su estructura, característica que les confiere una elevada inestabilidad y una alta capacidad de reacción con otras moléculas biológicas. En los sistemas vivos, estos radicales corresponden principalmente a las especies reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS), las cuales se generan de forma continua como consecuencia normal del metabolismo celular (Betteridge, 2000).

Entre las especies reactivas más relevantes presentes en los sistemas biológicos se encuentran el anión superóxido y el radical hidroxilo, así como especies no radicalarias estrechamente relacionadas, como el peróxido de hidrógeno, las cuales pueden reaccionar con lípidos, proteínas y otros componentes celulares, afectando la integridad y funcionalidad de las biomoléculas (Betteridge, 2000; Avello & Suwalsky, 2006).

La generación de estas especies no es intrínsecamente perjudicial, ya que a concentraciones bajas o moderadas participan en funciones fisiológicas esenciales, incluyendo procesos de señalización celular, regulación de respuestas inmunes y mecanismos de defensa frente a agentes patógenos (Valko et al., 2007).

Sin embargo, cuando la producción de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno se incrementa de manera excesiva o sostenida, estas pueden sobrepasar la capacidad reguladora de la célula y convertirse en agentes dañinos, favoreciendo alteraciones estructurales y funcionales de los componentes celulares (Pham-Huy et al., 2008).

2.6.2. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se produce cuando existe un desequilibrio entre la producción de especies reactivas y la capacidad de los sistemas antioxidantes para neutralizarlas, condición que ha sido definida como una alteración del balance entre radicales libres y defensas antioxidantes (Betteridge, 2000).

Entre las principales consecuencias del estrés oxidativo se encuentran la peroxidación lipídica de las membranas celulares, las modificaciones estructurales de proteínas y el daño oxidativo del ADN. En particular, la peroxidación lipídica ha sido ampliamente estudiada debido a su impacto directo sobre la integridad, permeabilidad y funcionalidad de las membranas biológicas (Betteridge, 2000).

Diversos estudios han asociado el estrés oxidativo con el desarrollo y la progresión de enfermedades crónicas y degenerativas, incluyendo patologías cardiovasculares, trastornos neurodegenerativos, procesos inflamatorios y cáncer, lo que evidencia su relevancia en la fisiopatología humana (Pham-Huy et al., 2008).

En este sentido, las especies reactivas de oxígeno cumplen funciones fisiológicas importantes; sin embargo, su sobreproducción genera un estado de estrés oxidativo que

contribuye al daño celular y al desarrollo de diversas patologías (Birben et al., 2012; Jomova et al., 2023). Frente a ello, los sistemas antioxidantes desempeñan un papel fundamental en la neutralización de radicales libres, destacando los compuestos fenólicos de origen vegetal por su actividad antioxidante reportada (Albano et al., 2022). En este marco, la evaluación de la actividad antioxidante en especies vegetales permite establecer su relevancia biológica frente a procesos asociados al estrés oxidativo.

2.6.3. Antioxidantes

Para contrarrestar los efectos del estrés oxidativo, los sistemas biológicos han desarrollado múltiples mecanismos de defensa antioxidante, los cuales incluyen antioxidantes endógenos como enzimas especializadas y moléculas de bajo peso molecular, cuya función es neutralizar especies reactivas o limitar su formación antes de que ocasionen daño celular (Valko et al., 2007).

Además de estos mecanismos internos, los antioxidantes exógenos provenientes de la dieta desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento del equilibrio redox. Entre ellos se incluyen vitaminas antioxidantes y metabolitos de origen vegetal, los cuales contribuyen a reforzar las defensas antioxidantes y a reducir el impacto de los procesos oxidativos (Avello & Suwalsky, 2006).

Dentro de los antioxidantes naturales, los compuestos fenólicos destacan por su capacidad para neutralizar especies reactivas mediante distintos mecanismos, como la donación de electrones. Su presencia en alimentos de origen vegetal ha sido asociada con una mejora del estado antioxidante plasmático y con efectos protectores frente al daño oxidativo (Avello & Suwalsky, 2006).

2.7. Ensayos para la determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de extractos vegetales y compuestos bioactivos puede ser evaluada mediante diversos ensayos *in vitro*, los cuales se basan en distintos principios químicos y mecanismos de acción. Diversos autores coinciden en que ningún método individual es capaz de describir de manera completa el comportamiento antioxidante de una muestra, debido a que cada ensayo evalúa un aspecto específico de la actividad antioxidante, como la capacidad de captura de radicales libres o el poder reductor (Molyneux, 2004; Benzie & Strain, 1996; Re et al., 1999).

2.7.1. Ensayo DPPH

El ensayo basado en el radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•) se emplea ampliamente para estimar actividad antioxidante. Este radical es estable debido a la deslocalización del electrón y presenta una coloración violeta intensa, con una banda de absorción en etanol alrededor de 520 nm (Molyneux, 2004).

El fundamento del método es que, al mezclar DPPH• con una sustancia capaz de donar un átomo de hidrógeno, el radical se convierte en su forma reducida (DPPH-H / no radical) y se pierde la coloración violeta; en ese paso inicial, el donador se transforma en un radical derivado del antioxidante (A•) (Molyneux, 2004), en la práctica, la disminución de absorbancia se registra en la zona del máximo de absorción reportado para DPPH (con valores usados en la literatura entre 515–520 nm, incluyendo 517 nm) (Molyneux, 2004; Gülçin & Alwasel, 2023).

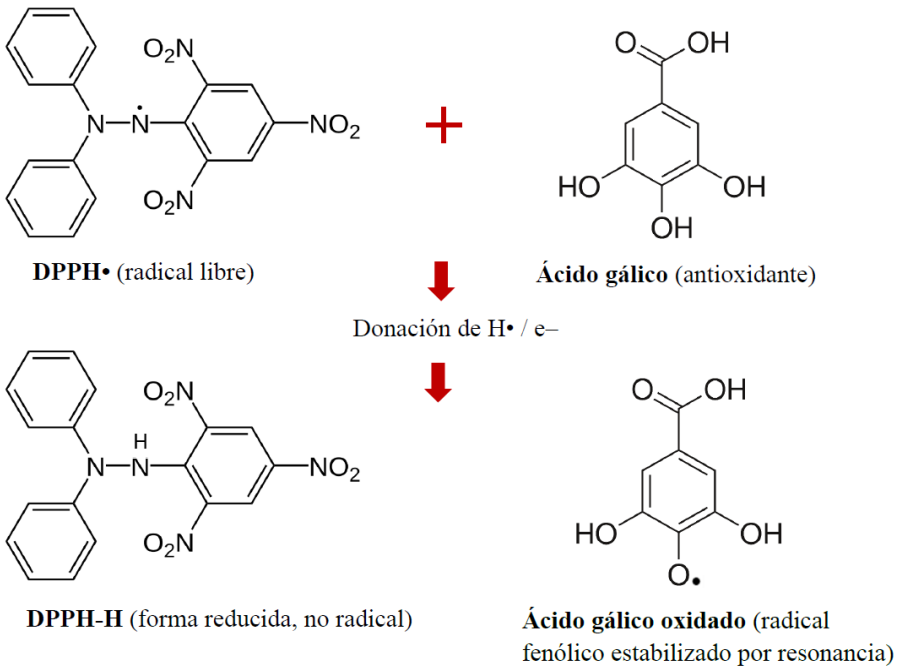


Figura 4. Esquema ilustrativo del principio del ensayo DPPH.

El radical estable DPPH• es reducido por un compuesto fenólico (ejemplo: ácido gálico) mediante la donación de un átomo de hidrógeno o un electrón, originando la forma no radical DPPH-H, mientras que el antioxidante se oxida formando un radical fenólico estabilizado por resonancia.

Fuente: elaboración propia, basada en Molyneux (2004) y Gülçin & Alwasel (2023).

Como ventaja, el DPPH es un método directo basado en un cambio espectrofotométrico, pero su interpretación puede verse afectada por condiciones experimentales: Molyneux enfatiza que el método es, en esencia, una titulación colorimétrica y que deben considerarse factores como el tiempo de reacción (idealmente seguir hasta "plateau" porque la velocidad varía entre sustratos) y posibles contribuciones de color/absorbancia, ajenas al DPPH (Molyneux, 2004). En la misma línea, Gülçin & Alwasel discuten limitaciones relacionadas con la cinética y con el efecto del medio/solvente, que pueden modificar la respuesta observada (Gülçin & Alwasel, 2023).

2.7.2. Ensayo ABTS

El método ABTS se basa en la generación del radical catiónico $ABTS^{+\cdot}$, el cual es neutralizado por antioxidantes mediante mecanismos de transferencia de electrones o de hidrógeno. La disminución de la coloración del radical se mide espectrofotométricamente y es proporcional a la capacidad antioxidante de la muestra (Re et al., 1999).

A diferencia del DPPH, el ensayo ABTS puede aplicarse tanto en sistemas hidrofílicos como lipofílicos, lo que amplía su utilidad para la evaluación de muestras de diversa naturaleza química (Re et al., 1999).

2.7.3. Ensayo FRAP

El ensayo FRAP se utiliza para evaluar la capacidad antioxidante de una muestra a partir de su capacidad reductora, es decir, su habilidad para donar electrones. El método se fundamenta en la reducción del ion férrico (Fe^{3+}) a ion ferroso (Fe^{2+}) en un medio ácido. Para que esta reacción pueda ser detectada, el ion férrico se encuentra inicialmente formando un complejo con tripiridiltriazina (TPTZ), el cual presenta una coloración tenue. Cuando los antioxidantes presentes en la muestra reducen este complejo, se forma el complejo ferroso correspondiente, que desarrolla una coloración azul intensa, fácilmente medible por métodos espectrofotométricos (Benzie & Strain, 1996).

El incremento de la coloración azul se registra mediante la medición de la absorbancia a una longitud de onda cercana a 593 nm, y es proporcional a la capacidad reductora total de la muestra analizada. De este modo, el ensayo FRAP proporciona un índice global del poder antioxidante basado en reacciones de reducción, aunque no evalúa directamente la neutralización de radicales libres. Entre sus principales ventajas se encuentran la simplicidad, rapidez y reproducibilidad del procedimiento; sin embargo, al realizarse bajo condiciones químicas no fisiológicas y depender únicamente de mecanismos

redox, sus resultados deben interpretarse como una medida complementaria dentro de la evaluación integral de la actividad antioxidante (Benzie & Strain, 1996).

2.7.4. Ventajas y limitaciones de los ensayos antioxidantes

Los ensayos DPPH, ABTS y FRAP presentan ventajas como simplicidad, rapidez y reproducibilidad. Sin embargo, cada uno se basa en mecanismos diferentes y posee limitaciones inherentes a su principio químico. Por esta razón, distintos autores señalan que los resultados obtenidos mediante estos métodos deben interpretarse de forma complementaria, considerando que cada ensayo aporta información parcial sobre la actividad antioxidante de una muestra (Molyneux, 2004; Re et al., 1999; Benzie & Strain, 1996; Gulcin & Alwasel, 2023).

2.8. Determinación de fenoles totales por el método de Folin–Ciocalteu

El método de Folin–Ciocalteu es uno de los ensayos colorimétricos más utilizados para la determinación del contenido total de compuestos fenólicos en extractos vegetales, debido a su sencillez, reproducibilidad y amplia aceptación en la literatura científica (Dai & Mumper, 2010). Su aplicación se basa en la capacidad reductora de los compuestos fenólicos, propiedad estrechamente relacionada con su actividad antioxidante, lo que permite emplearlo como una herramienta comparativa para evaluar diferentes matrices vegetales, especies y condiciones de extracción.

2.8.1. Mecanismo químico del método de Folin–Ciocalteu

El fundamento químico del método se basa en una reacción de óxido–reducción que ocurre en medio alcalino, en la cual los compuestos fenólicos actúan como agentes reductores (Pérez et al., 2023). Bajo estas condiciones, los grupos fenólicos se oxidan y liberan electrones que son transferidos a los complejos fosfomolibdato y fosfotungstato

presentes en el reactivo de Folin–Ciocalteu, provocando su reducción y la formación de un complejo de color azul intenso.

La reacción se desarrolla a pH básico, generalmente ajustado mediante la adición de carbonato de sodio, condición necesaria para que los compuestos fenólicos reaccionen con el reactivo (Pérez et al., 2023). El complejo reducido presenta un máximo de absorbancia en la región visible, aproximadamente entre 760 y 765 nm, lo que permite su cuantificación por espectrofotometría UV–Visible. Los resultados se expresan comúnmente como equivalentes de ácido gálico, utilizando curvas de calibración construidas con este compuesto como estándar de referencia.

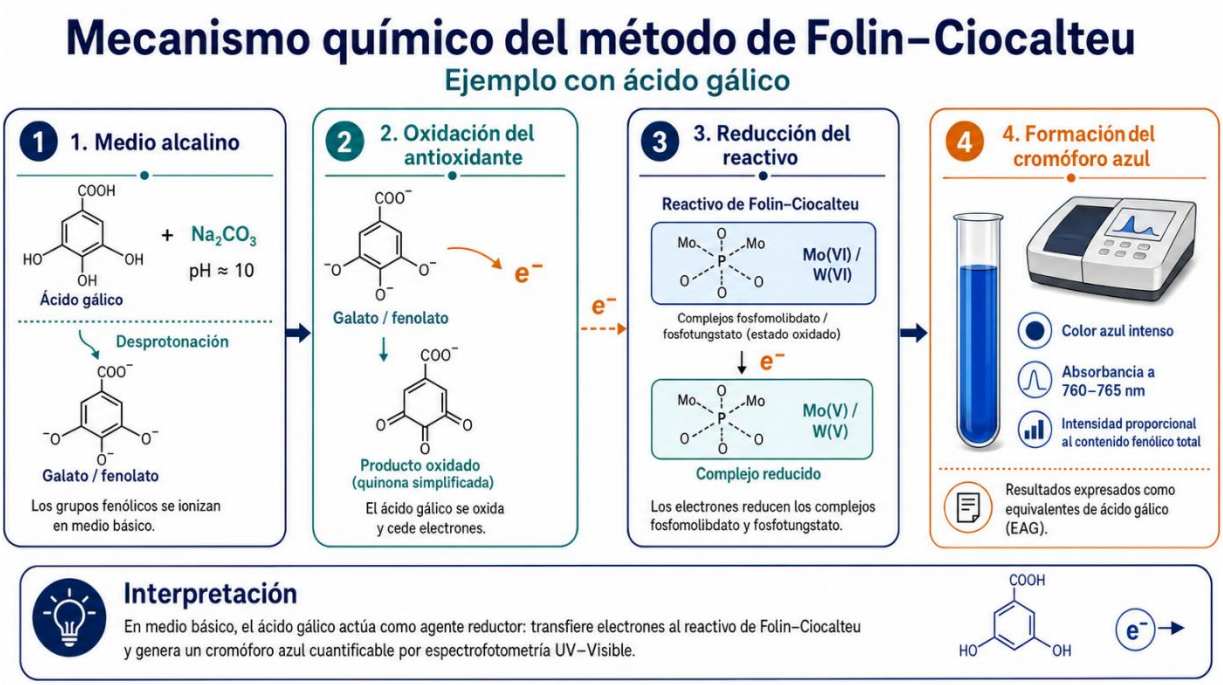


Figura 5. Mecanismo de reacción del método de Folin–Ciocalteu.

En medio alcalino, el ácido gálico se desprotona y actúa como agente reductor, transfiriendo electrones al reactivo de Folin–Ciocalteu. Esta reacción reduce los complejos fosfomolibdato y fosfotungstato, generando un cromóforo azul cuya intensidad es proporcional al contenido fenólico total.

Fuente: Elaboración propia con base en Nastasi (2025).

2.8.2. Limitaciones del método de Folin–Ciocalteu

A pesar de su amplio uso, el método de Folin–Ciocalteu no es completamente específico para compuestos fenólicos, ya que otras sustancias con capacidad reductora presentes en la matriz, como ácido ascórbico, azúcares reductores o algunas aminas, pueden contribuir a la señal obtenida y generar una sobreestimación del contenido fenólico total (Pérez et al., 2023; Dai & Mumper, 2010). No obstante, debido a su simplicidad, buena reproducibilidad y adecuada correlación con otros ensayos antioxidantes, el método continúa siendo ampliamente utilizado como una herramienta de tamizaje y evaluación global del potencial antioxidante de extractos vegetales.

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo, enfoque y diseño de la investigación

La presente investigación tuvo un enfoque cuantitativo y fue de tipo descriptivo–analítico. El estudio se desarrolló bajo un diseño no experimental, dado que no se realizaron manipulaciones deliberadas de las condiciones experimentales, sino que se evaluaron parámetros fitoquímicos y de actividad antioxidante en un extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* Ricardi. Las determinaciones se realizaron en un único momento del estudio.

3.2. Lugar de ejecución

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Anatomía y Farmacognosia Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM, ubicado en el distrito de Lima, departamento de Lima, durante la segunda mitad del año 2025.

3.3. Material biológico

3.3.1. Población

La población estuvo conformada por individuos de la especie *Malesherbia splendens* Ricardi, recolectados en el poblado de San Pedro de Casta, ubicado a 3 021 m s. n. m., en la provincia de Huarochirí, departamento de Lima.

3.3.2. Muestra

La muestra estuvo constituida por material fresco de la parte aérea de *Malesherbia splendens* Ricardi. Se recolectó aproximadamente un kilogramo de material vegetal proveniente de una chacra del poblado de San Pedro de Casta, con autorización del

propietario del terreno. Posteriormente, el material fue secado y acondicionado para su uso en los análisis fitoquímicos.

3.3.3. Unidades experimentales

La unidad de análisis estuvo constituida por el extracto hidroalcohólico seco de la parte aérea de *Malesherbia splendens* Ricardi, obtenido a partir de 140 g de material vegetal seco.

3.4. Variables de investigación

3.4.1. Variable de estudio 1 (parámetro fitoquímico)

Contenido total de compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* Ricardi, determinado mediante el método de Folin–Ciocalteu y expresado como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EAG/g).

3.4.2. Variable de estudio 2 (parámetro funcional)

Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* Ricardi, evaluada mediante el método DPPH y expresada como porcentaje de inhibición del radical DPPH y valor IC_{50}.

3.4.3. Operacionalización de los parámetros evaluados

Tabla 1. Definición operacional de las variables y técnicas analíticas empleadas

Variable	**Indicador**	**Técnica**	**Instrumento**	**Unidad de medida**
Contenido de compuestos fenólicos totales	Absorbancia	Folin–Ciocalteu	Espectrofotómetro UV-Vis	mg EAG/g extracto
Actividad antioxidante	% inhibición / CI_{50}	DPPH	Espectrofotómetro UV-Vis	µg/mL

3.5. Material de laboratorio

3.5.1. Reactivos

Etanol al 70 % (p.a.), Etanol al 60 %, Hexano, reactivos de Dragendorff, Mayer y Wagner; cloruro férrico ($FeCl_3$), magnesio en polvo, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido acético glacial, solución amoniacal, hidróxido de sodio, cloroformo, reactivo de Molisch, agua destilada, DPPH, antioxidante estándar (Trolox), reactivo de Folin–Ciocalteu, carbonato de sodio al 7,5 % (m/v) y ácido gálico.

3.5.2. Materiales

Tubos de ensayo (13x100 mm y 16×150 mm), celdas de cuarzo, puntas para micropipetas, micropipetas (50–100 µL y 100–1000 µL), probetas graduadas, matraces Erlenmeyer de 250 mL, embudos de vidrio, peras de decantación de 150 mL, fiolas de 100 mL, vasos de precipitados de 50, 100 y 250 mL, gradillas, soporte universal, pinzas, espátula metálica fina, pipetas Pasteur de 3 mL, propipeta, pipetas graduadas de 5 y 10 mL, bagueta, lunas de reloj, papel filtro, papel parafilm, tijeras, papel aluminio, piseta, guantes, gafas de seguridad, etiquetas, rotulador y cronómetro.

3.5.3. Equipos

Espectrofotómetro UV-Vis, baño María, balanza analítica, sonicador, estufa y refrigerador.

3.6. Técnicas y procedimientos

3.6.1. Obtención del material biológico e identificación

La parte aérea de *Malesherbia splendens* Ricardi fue recolectada en el poblado de

San Pedro de Casta, ubicado en la provincia de Huarochirí, departamento de Lima, Perú. La recolección se realizó considerando ejemplares sanos y representativos de la especie, evitando material dañado o contaminado.

La identificación botánica preliminar se efectuó mediante la observación de las características morfológicas y el empleo de claves taxonómicas. Posteriormente, una muestra vegetal fértil fue remitida al Herbario San Marcos (USM) del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde se realizó la identificación y confirmación taxonómica por un especialista, conforme al sistema de clasificación APG IV (2016), determinándose la especie como *Malesherbia splendens* Ricardi (véase Anexo 1).

3.6.2. Selección, acondicionamiento y secado del material vegetal

La muestra recolectada de *Malesherbia splendens* Ricardi fue cuidadosamente seleccionada, utilizándose las partes aéreas de la planta, que incluyeron hojas y flores jóvenes y sanas, libres de daños mecánicos, signos de deterioro, ataque de insectos o contaminación por impurezas como polvo u otros residuos. El material vegetal fue limpiado manualmente para eliminar restos ajenos a la planta antes de su procesamiento.

Posteriormente, se pesaron 500 g de material vegetal fresco, los cuales fueron sometidos a secado en estufa a 40 °C hasta alcanzar peso constante, durante aproximadamente una semana. Al finalizar el proceso de secado, se obtuvo un total de 140 g de material vegetal seco, el cual fue utilizado para la obtención del extracto hidroalcohólico.

3.6.3. Obtención del extracto hidroalcohólico

El material vegetal seco (140 g) fue sometido a un proceso de maceración empleando 2,8 L de etanol al 70 %, manteniendo una adecuada relación planta–solvente. La maceración se realizó a temperatura ambiente, en un recipiente herméticamente cerrado y protegido de la luz, durante un período aproximado de un mes, con agitación ocasional para favorecer la extracción de los metabolitos secundarios.

Transcurrido el tiempo de maceración, la mezcla fue filtrada utilizando papel filtro Whatman N.° 1, obteniéndose el extracto líquido. Posteriormente, el filtrado fue concentrado inicialmente en baño María para favorecer la evaporación del solvente y, finalmente, llevado a estufa a 40 °C ± 2 °C hasta obtener un extracto seco de peso constante.

El extracto seco obtenido fue empleado para la preparación de las soluciones requeridas para los diferentes análisis fitoquímicos y ensayos antioxidantes, de acuerdo con los requerimientos específicos de cada metodología.

3.7. Determinación del contenido de humedad del material vegetal

El contenido de humedad del material vegetal se determinó mediante secado hasta peso constante. El porcentaje de humedad se calculó utilizando la siguiente expresión:

$$\text{Humedad}(\%) = \frac{\text{Masa inicial} - \text{Masa seca}}{\text{Masa inicial}} \text{x}100$$

3.8. Determinación del rendimiento del extracto hidroalcohólico

El rendimiento del extracto hidroalcohólico seco se calculó a partir de la relación entre la masa del extracto seco obtenido y la masa del material vegetal seco, según la

siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento}(\%) = \frac{\text{Masa de extracto seco}}{\text{Masa de materia vegetal seco}} \text{x}100$$

3.9. Análisis fitoquímico

Se realizó el tamizaje fitoquímico cualitativo para la detección de los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* Ricardi. El procedimiento se basará en la marcha fitoquímica descrita por Lock de Ugaz (1994) y Harborne (1998) incorporando la metodología de Godlewska et al. (2022).

3.9.1. Alcaloides

Ensayo de Dragendorff. Se preparó una solución acuosa del extracto a una concentración de 100 mg en 10 mL de agua destilada, la cual fue previamente acidulada con ácido clorhídrico. A 1 mL del extracto acidulado se le añadieron 3 a 4 gotas del reactivo de Dragendorff. La formación de un precipitado anaranjado o rojizo es considerada indicativa de la presencia de alcaloides.

Reactivo de Mayer. A 1 mL del mismo extracto acidulado se le añadieron algunas gotas del reactivo de Mayer. La aparición de un precipitado blanco o crema es considerada indicativa de la presencia de alcaloides.

Reactivo de Wagner. A una alícuota de 1 mL del extracto acidulado se le añadieron unas gotas del reactivo de Wagner. La formación de turbidez u opalescencia es considerada indicativa de la presencia de alcaloides.

3.9.2. Flavonoides

Prueba de Shinoda. Se preparó una solución del extracto en etanol al 70 % a una concentración de 5 mg/mL. A 1 mL de esta solución se le añadieron limaduras de magnesio y posteriormente ácido clorhídrico concentrado. La aparición de una coloración naranja o rojiza es considerada indicativa de la presencia de flavonoides.

Prueba de Rosenheim. A 1 mL del extracto hidroalcohólico al 70 % se le añadió ácido clorhídrico concentrado y la mezcla fue calentada suavemente durante unos minutos. Posteriormente, se dejó enfriar y se adicionó alcohol amílico, agitándose cuidadosamente. La aparición de una coloración rojo-violeta en la fase orgánica es considerada indicativa de la presencia de flavonoides.

Leucoantocianidinas. A 1 mL del extracto hidroalcohólico al 70 % se le añadió ácido clorhídrico al 10 %, y la mezcla fue calentada en baño María durante aproximadamente 10 minutos. Tras el enfriamiento a temperatura ambiente, el desarrollo de una coloración rosada o roja es considerado indicativo de la presencia de leucoantocianidinas.

3.9.3. Triterpenos y esteroides

Ensayo de Salkowski. Se realizó una partición líquido–líquido del extracto empleando agua destilada y hexano en proporción 1:1. La mezcla fue agitada y posteriormente separada en una pera de decantación, recuperando la fase orgánica. A 2 mL de esta fase orgánica se le añadió cuidadosamente 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado por las paredes del tubo de ensayo. La aparición de una coloración amarilla a anaranjada en la interfase es considerada indicativa de la presencia de triterpenos o esteroles.

Ensayo de Liebermann–Burchard. A 1 mL de la misma fase orgánica obtenida tras la partición con hexano se le añadió anhídrido acético y, posteriormente, dos gotas de

ácido sulfúrico concentrado. El desarrollo de una coloración verde–azulada indica la presencia de esteroles, mientras que tonalidades rojo–rosadas son indicativas de terpenos.

3.9.4. Compuestos fenólicos

Para la detección cualitativa de compuestos fenólicos, se preparó previamente una solución del extracto a una concentración de 5 mg/mL, disuelta en etanol al 70 %. A 2 mL de esta solución se le añadieron 3 gotas de cloruro férrico ($FeCl_3$) al 5 %. La aparición de una coloración oscura es considerada indicativa de la presencia de compuestos fenólicos.

3.9.5. Glicósidos

Prueba de Molisch. A 2 mL de la misma solución del extracto hidroalcohólico al 70 % (5 mg/mL) se le añadieron dos gotas del reactivo de Molisch y, posteriormente, 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, agregado cuidadosamente por las paredes del tubo de ensayo. La formación de un anillo violeta en la interfase es considerada indicativa de la presencia de glicósidos.

3.9.6. Quinonas

Prueba de Borntrager. A 2 mL del extracto hidroalcohólico al 70 % se le añadieron 2 mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 5 % y la mezcla fue calentada en baño María durante 5–10 minutos. Posteriormente, la muestra fue enfriada, acidificada con ácido clorhídrico diluido y sometida a extracción con cloroformo. La fase orgánica obtenida fue tratada con amoníaco diluido, considerándose la aparición de una coloración característica como indicativa de la presencia de antraquinonas.

3.9.7. Saponinas

Ensayo de la espuma. A 1 mL del extracto hidroalcohólico al 70 % se le añadieron 5 mL de agua destilada y la mezcla fue agitada vigorosamente durante aproximadamente 30

segundos. La formación de una espuma persistente durante al menos 10 minutos es considerada indicativa de la presencia de saponinas.

3.10. Determinación del contenido total de fenoles

El contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico sólido se determinó mediante el método colorimétrico de Folin–Ciocalteu, utilizando ácido gálico como estándar de referencia. El principio del método se basa en una reacción de oxidación–reducción entre los compuestos fenólicos presentes en la muestra y el reactivo Folin–Ciocalteu, dando lugar a la formación de un complejo de color azul cuya intensidad es proporcional a la concentración total de compuestos fenólicos (Pérez et al., 2023; Molole et al., 2022).

3.10.1. Preparación de reactivos

La solución de carbonato de sodio al 7,5 % (p/v) se preparó disolviendo 7,5 g de Na_2CO_3 en agua destilada hasta completar un volumen final de 100 mL. La solución se almacenó en un frasco de vidrio hermético y se conservó en refrigeración hasta su uso.

La solución stock de ácido gálico (100 µg/mL) se preparó disolviendo 0,01 g de ácido gálico en 100 mL de agua destilada. La solución obtenida se transfirió a un frasco de vidrio ámbar y se mantuvo en refrigeración. El reactivo Folin–Ciocalteu comercial se diluyó en una proporción 1:9 (v/v) con agua destilada para obtener la solución de trabajo empleada durante el análisis.

3.10.2. Preparación de la curva de calibración

La curva de calibración se elaboró a partir de la solución stock de ácido gálico (100 µg/mL), preparando cinco soluciones estándar mediante diluciones con agua destilada. Las

concentraciones finales de los estándares y los volúmenes utilizados se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Preparación de los estándares de ácido gálico utilizados en la elaboración de la curva de calibración.

Estándar	**Concentración final (µg/mL)**	**Ácido gálico (µL)**	**Agua destilada (µL)**
STD 1	20	200	800
STD 2	40	400	600
STD 3	60	600	400
STD 4	80	800	200
STD 5	100	1000	-

A partir de estas soluciones se tomaron alícuotas fijas para su reacción con el reactivo Folin–Ciocalteu, de manera análoga al tratamiento aplicado a las muestras.

3.10.3. Preparación de las soluciones de extracto

A partir del extracto hidroalcohólico sólido seco se prepararon dos soluciones madre en agua destilada, con concentraciones de 0,5 mg/mL y 1,0 mg/mL. De cada solución madre se tomaron dos alícuotas (150 µL y 300 µL), las cuales se emplearon directamente en la reacción colorimétrica para la determinación del contenido de polifenoles.

3.10.4. Procedimiento analítico

Para la determinación de polifenoles totales, tanto en estándares como en muestras, se trabajó con un volumen final de reacción de 3,0 mL. En cada tubo o cubeta se adicionó el volumen correspondiente de estándar o muestra, seguido de la adición del reactivo Folin–Ciocalteu diluido (1:9). Tras un tiempo de reacción de 3 a 5 minutos, se añadió la solución de carbonato de sodio al 7,5 %. Las mezclas se homogenizaron mediante sonicación durante

5 minutos y posteriormente se dejaron reaccionar durante 60 minutos en completa oscuridad, a temperatura ambiente.

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado independiente, y los resultados se expresaron como media ± desviación estándar.

3.10.5. Lectura espectrofotométrica

Finalizado el tiempo de reacción, la absorbancia de las soluciones se midió mediante espectrofotometría UV–VIS a una longitud de onda de 760 nm, utilizando como blanco una mezcla preparada sin ácido gálico ni extracto.

3.10.6. Curva de calibración y expresión de resultados

La cuantificación del contenido de polifenoles se realizó mediante una curva de calibración construida con ácido gálico, aplicando un ajuste por regresión lineal para obtener la ecuación correspondiente. Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg GAE/g), considerando la concentración determinada en la cubeta y la masa real de extracto presente en cada alícuota analizada.

3.11. Evaluación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico seco de *Malesherbia splendens* Ricardi se determinó mediante el método del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), utilizando Trolox como estándar de referencia. El ensayo se realizó según el método descrito por Brand-Williams et al. (1995), considerando las recomendaciones y variaciones reportadas para este ensayo (Kedare & Singh, 2011), y en concordancia con aplicaciones en matrices vegetales reportadas por Ruiz et al. (2018). El principio del método se basa en la capacidad de los compuestos antioxidantes presentes en la muestra para reducir

el radical DPPH, lo que se evidencia por una disminución de la absorbancia del sistema.

3.11.1. Preparación de reactivos

Se preparó una solución de DPPH a una concentración de 0.1 mM, disolviendo el reactivo en etanol p.a. al 60 % (v/v). La solución se mantuvo protegida de la luz hasta su utilización. Asimismo, se preparó una solución madre de Trolox 2 mM, la cual se empleó para la elaboración de las soluciones estándar utilizadas en la curva de calibración.

3.11.2 Preparación de la curva de calibración

A partir de la solución madre de Trolox (2 mM) se prepararon soluciones estándar en un rango de concentraciones comprendido entre 0.1 y 1.5 mM, mediante diluciones con etanol al 60 %. Las concentraciones finales y los volúmenes empleados para cada estándar se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Preparación de las soluciones estándar de Trolox para la curva de calibración del ensayo DPPH.

Estándar	**Concentración (mM)**	**Volumen de Trolox 2 mM (µL)**	**Volumen de etanol 60 % (µL)**
STD 1	1.5	750	250
STD 2	1.0	500	500
STD 3	0.75	375	625
STD 4	0.50	250	750
STD 5	0.10	50	950

A partir de estas soluciones estándar se tomaron alícuotas fijas para su reacción con la solución de DPPH, de manera análoga al tratamiento aplicado a las muestras. La solución de DPPH sin antioxidante se empleó como control del ensayo y como punto cero para la curva de calibración.

3.11.3. Preparación de las soluciones de extracto

A partir del extracto hidroalcohólico desecado se preparó una solución madre a una concentración de 10 mg/mL, utilizando etanol p.a. al 60 % (v/v) como solvente. A partir de esta solución se tomaron diferentes alícuotas para su posterior reacción con el radical DPPH, de acuerdo con el diseño experimental descrito en la Tabla 4.

Tabla 4. Diseño experimental del ensayo DPPH para las soluciones del extracto hidroalcohólico.

Ensayo	**Volumen de extracto (µL)**	**Volumen de DPPH (µL)**	**Volumen final (mL)**
M1	50	2950	3.0
M2	100	2900	3.0
M3	150	2850	3.0
M4	200	2800	3.0
Control	0	3000	3.0

3.11.4. Procedimiento analítico

Para la determinación de la actividad antioxidante, tanto en estándares como en muestras, se trabajó con un volumen final de reacción de 3.0 mL. En cada tubo o cubeta se adicionó el volumen correspondiente de estándar o muestra, seguido de la adición de la solución de DPPH (0.1 mM).

Las mezclas se incubaron en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente, permitiendo el desarrollo completo de la reacción antioxidante. Todas las determinaciones, incluyendo estándares, muestras y controles, se realizaron por triplicado independiente, y los resultados se expresaron como media ± desviación estándar.

3.11.5. Lectura espectrofotométrica

Finalizado el tiempo de incubación, la absorbancia de las soluciones se midió mediante espectrofotometría UV–Vis a una longitud de onda de 517 nm, utilizando etanol al 60 % como blanco y la solución de DPPH sin antioxidante como control.

3.11.6. Curva de calibración y expresión de resultados

La cuantificación de la actividad antioxidante se realizó mediante una curva de calibración construida con Trolox, aplicando un ajuste por regresión lineal. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del radical DPPH, calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{A control} - \text{A muestra}}{\text{A control}} \text{x}100$$

donde:

A control: absorbancia de la solución de DPPH en ausencia de antioxidante

A muestra: absorbancia de la solución de DPPH en presencia del extracto o del estándar antioxidante.

3.12. Análisis de datos

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva y expresados como media ± desviación estándar. Para la cuantificación del contenido de compuestos fenólicos totales y de la actividad antioxidante, se emplearon curvas de calibración construidas por regresión lineal, a partir de las cuales se calcularon las concentraciones correspondientes.

La actividad antioxidante del extracto se evaluó mediante el cálculo del porcentaje

de inhibición del radical DPPH y la determinación del valor IC_{50}, obtenidos a partir de la curva dosis–respuesta. Los resultados fueron interpretados y comparados con valores reportados en la literatura científica para extractos vegetales obtenidos por métodos similares.

3.13. Aspectos éticos

El material vegetal empleado en el presente estudio fue obtenido de una planta cultivada de origen doméstico, con fines no comerciales. La recolección se realizó con consentimiento verbal del propietario, sin afectar la integridad de la planta ni su entorno.

El estudio no involucró seres humanos ni animales de experimentación, por lo que no requirió la aprobación de un comité de ética. Asimismo, se respetaron los principios de buenas prácticas científicas y se reconocieron adecuadamente las fuentes bibliográficas utilizadas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Contenido de humedad del material vegetal

El contenido de humedad del material vegetal fue de **72.0 %,** correspondiente a un **28.0 %** de materia seca.

4.1.2. Rendimiento del extracto hidroalcohólico seco

El rendimiento del extracto hidroalcohólico seco obtenido a partir del material vegetal seco fue de **27.78 % (p/p).**

4.1.3. Análisis fitoquímico

Tabla 5. Prueba preliminar cualitativa de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Malesherbia splendens* Ricardi.

Metabolito secundario	**Prueba de caracterización**	**Resultado**
Alcaloides	Dragendorff	**-**
	Mayer	**-**
	Wagner	**-**
Flavonoides	Shinoda	+++
	Rosenheim	**-**
Leucoantocianidinas	—	**-**
Triterpenos y esteroides	Salkowski	++
	Liebermann–Burchard	++
Compuestos fenólicos	$FeCl_3$	+++
Glicósidos	Molisch	+

Quinonas	Borntrager	-
Saponinas	Ensayo de la espuma	-

+, ++ y +++ indican presencia relativa; – indica ausencia.

Fuente: Datos del Autor

4.1.4. Contenidos de polifenoles totales en las muestras

La concentración de polifenoles totales, expresada como equivalentes de ácido gálico (GAE), se determinó por interpolación en la curva de calibración construida con soluciones estándar de ácido gálico (0–10 µg/mL), analizadas por triplicado. Se obtuvo una relación lineal entre la absorbancia y la concentración, descrita por la ecuación Abs = 0.0121X − 0.0048, con un coeficiente de determinación R^2 = 0.9877, lo que evidenció un adecuado ajuste del modelo.

La concentración de GAE (µg/mL) en cada muestra se calculó despejando la ecuación de la recta y aplicando el correspondiente factor de dilución. Posteriormente, se determinó la cantidad total de GAE presente en el volumen de reacción (3 mL), expresándose los resultados como contenido total de polifenoles.

Figura 6. Curva de calibración utilizada para la determinación de polifenoles totales, mostrando la relación lineal entre la absorbancia y la concentración dentro del rango analizado.

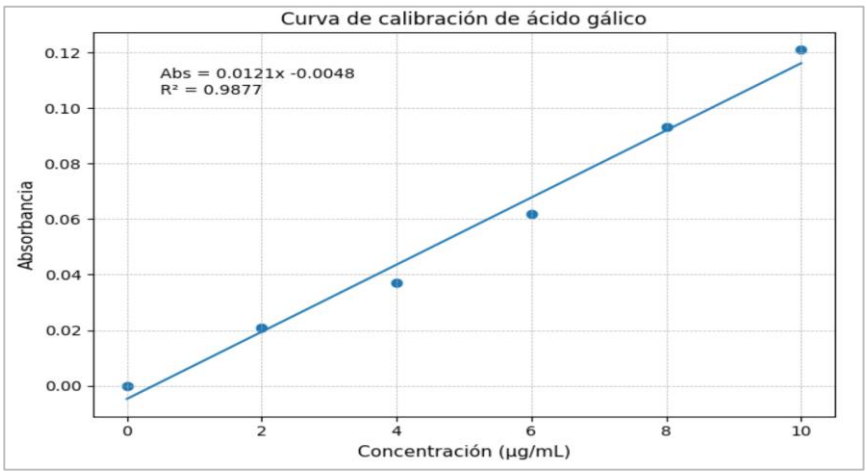


Tabla 6. Resultados del contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico, expresado como equivalentes de ácido gálico (n = 3).

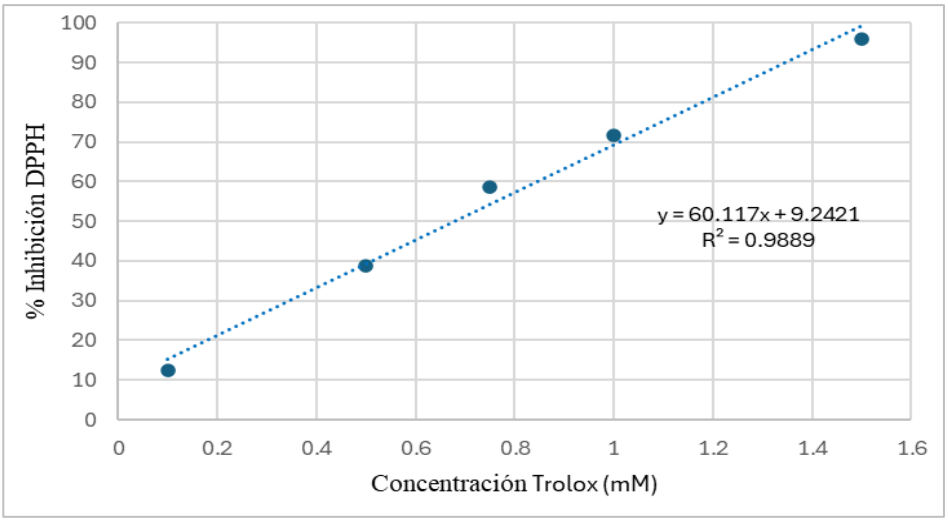
Muestra	Abs (± DE)	Factor de dilución	[GAE] en cubeta (µg/mL)	Total GAE en cubeta (µg)	Masa extracto en cubeta (µg)	mg GAE / g extracto (± DE)
M1	0.092 ± 0.002	1	8	24.01	75.0	**320.20 ± 6.61**
M2	0.091 ± 0.002	2	7.89	47.37	150.0	**315.79 ± 6.88**
M3	0.091 ± 0.001	2	7.92	47.53	150.0	**316.89 ± 3.31**
M4	0.074 ± 0.002	5	6.49	97.35	300.0	**324.49 ± 6.31**

El contenido de polifenoles totales del extracto, expresado como equivalentes de ácido gálico, fue de 319 ± 4 mg GAE/g de extracto seco.

4.1.5. Actividad antioxidante

Curva de calibración con Trolox. A partir de los valores obtenidos para las soluciones estándar de Trolox (0.1–1.5 mM), se calculó el porcentaje de inhibición del radical DPPH y se construyó la curva de calibración correspondiente (Figura 1). Se observó una relación directamente proporcional entre la concentración de Trolox y el porcentaje de inhibición del radical, evidenciando un comportamiento dosis–respuesta adecuado dentro del rango evaluado. El análisis por regresión lineal generó la ecuación: $y = 60.117x + 9.2421$, con un coeficiente de determinación $R^2 = 0.9889$, donde y representa el porcentaje de inhibición del radical DPPH y x la concentración de Trolox expresada en mM. El alto valor de R^2 indica un excelente ajuste lineal del modelo en el rango de concentración estudiado.

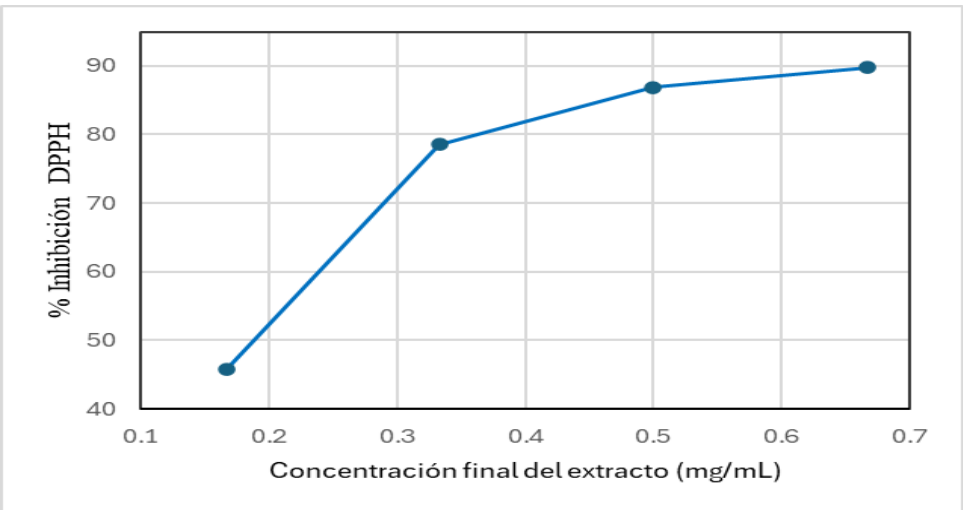
Figura 7.Curva de calibración de Trolox (0.1–1.5 mM) frente al porcentaje de inhibición del radical DPPH.



Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico. La actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico se evaluó en el rango de concentración de 0.1667 a 0.6667 mg/mL. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como media ± desviación estándar.

Se observó un incremento del porcentaje de inhibición conforme aumentó la concentración del extracto, alcanzando valores de 45.73 %, 78.52 %, 86.85 % y 89.75 % para las concentraciones de 0.1667, 0.3333, 0.5000 y 0.6667 mg/mL, respectivamente (Figura 8).

Figura 8. Curva dosis–respuesta del extracto hidroalcohólico frente al radical DPPH.



Los valores experimentales obtenidos se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico determinada por el método DPPH (n = 3).

Muestra	Alícuota (µL)	Concentración final (mg/mL)	% Inhibición (media ± DE)
M1	50	0.1667	45.73 ± 0.52
M2	100	0.3333	78.52 ± 0.41
M3	150	0.5000	86.85 ± 0.67
M4	200	0.6667	89.75 ± 0.36

Determinación del IC_{50}. El valor de IC_{50} se definió como la concentración del extracto necesaria para inhibir el 50 % del radical DPPH. En el presente estudio, la muestra M1 (0.1667 mg/mL) presentó una inhibición de 45.73 %, mientras que la muestra M2 (0.3333 mg/mL) alcanzó 78.52 %. Debido a que el 50 % de inhibición se encontró entre ambos valores experimentales, se obtuvo la ecuación lineal correspondiente entre dichos puntos: **y = 196.74x + 12.94** donde **y** representa el porcentaje de inhibición y **x** la concentración del extracto expresada en mg/mL. Al reemplazar y = 50, se obtuvo un IC_{50} estimado de 0.188 mg/mL, equivalente a 188 µg/mL.

4.2. Discusión

4.2.1. Eficiencia de extracción y caracterización fitoquímica

El análisis cualitativo de *M. splendens* reveló una marcada presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, además de triterpenos y esteroles. En especies afines como *Malesherbia auristipulata*, Erazo (2006) atribuyó la actividad antimicrobiana

principalmente a ácidos grasos poliinsaturados presentes en su exudado resinoso, lo que sugiere variabilidad en los metabolitos bioactivos dentro del género. Por otro lado, la ausencia de alcaloides y saponinas en el extracto hidroalcohólico de *M. splendens* contrasta con lo reportado en especies del género *Passiflora*, donde estos metabolitos han sido identificados y cuantificados, como en *Passiflora foetida* (Ajane & Patil, 2019). Asimismo, el predominio de compuestos fenólicos coincide con lo observado en otras Passifloraceae, en las que se ha descrito una relación directa entre contenido fenólico y actividad antioxidante (de Vargas et al., 2016; Wiliantari et al., 2022).

4.2.2. Análisis comparativo del contenido de polifenoles totales

El contenido fenólico total determinado en *Malesherbia splendens* (319 ± 4 mg GAE/g de extracto seco) se sitúa dentro del rango superior reportado para plantas medicinales andinas evaluadas mediante metodologías comparables basadas en el reactivo de Folin–Ciocalteu. Aronés-Jara (2022) informó valores comprendidos entre 28,9 y 386,3 mg GAE/g en especies medicinales recolectadas en ecosistemas altoandinos del Perú; en este contexto, el valor obtenido en el presente estudio se ubica en el segmento alto de dicho intervalo.

De manera comparable, Tauchen et al. (2016) reportaron en especies medicinales amazónicas evaluadas mediante el método de Folin–Ciocalteu contenidos fenólicos con amplia variabilidad, alcanzando valores máximos de hasta 672,3 mg GAE/g de extracto seco en frutos y superiores a 300 mg GAE/g en hojas. En este contexto, el contenido determinado en *M. splendens* (319 ± 4 mg GAE/g) se sitúa dentro del rango alto reportado para plantas medicinales tropicales, mostrando valores comparables a los descritos en órganos foliares e inferiores a los máximos observados en matrices frutales.

La eficiencia extractiva observada podría estar asociada al uso de solventes polares, cuya capacidad para solubilizar compuestos fenólicos ha sido ampliamente documentada. En este sentido, Mehmood et al. (2022) evidenciaron que extractos obtenidos con metanol y etanol presentaron mayores contenidos fenólicos en comparación con extractos acuosos, destacando la influencia del sistema de solvente en la recuperación de metabolitos secundarios. Asimismo, factores ambientales característicos de ecosistemas altoandinos, como la elevada radiación solar y otras condiciones de estrés abiótico, han sido señalados como posibles moduladores de la síntesis de compuestos fenólicos en especies andinas (Chirinos et al., 2013), lo que podría contribuir al perfil químico registrado en la especie estudiada.

4.2.3. Evaluación de la capacidad antioxidante y valor IC_{50}

La actividad antioxidante del extracto presentó un valor IC_{50} de 188 µg/mL, lo que indica una actividad moderada bajo las condiciones evaluadas. Este valor es superior al umbral de alta actividad (<10 µg/mL) definido por de Vargas et al. (2016). En comparación con estudios multiespecie realizados en plantas medicinales andinas, como el reportado por Aronés et al. (2022), cuyos valores de CI_{50} oscilaron entre 42.9 y 767.7 µg/mL, el extracto evaluado se ubica en un rango intermedio de actividad antioxidante. Asimismo, mostró mayor eficiencia que *Passiflora foetida* (IC_{50} = 614.40 µg/mL) reportada por Ajane & Patil (2019), aunque deben considerarse diferencias en los métodos de extracción utilizados.

El incremento progresivo del porcentaje de inhibición con el aumento de la concentración evidencia un comportamiento dosis-dependiente. Este resultado es consistente con lo descrito por Chirinos et al. (2013), quienes reportaron que las muestras con mayor contenido de compuestos fenólicos presentaron mayores niveles de actividad

antioxidante. Este efecto podría explicarse por la presencia de metabolitos fenólicos capaces de donar electrones o átomos de hidrógeno, mecanismo atribuido a la disponibilidad de grupos hidroxilo en sus estructuras químicas (Samudin et al., 2022).

4.2.4. Determinantes ecofisiológicos y bioquímicos de la actividad biológica

La elevada concentración de compuestos fenólicos, particularmente flavonoides, y su actividad antioxidante podrían estar asociadas a factores ecofisiológicos propios del lugar de recolección (San Pedro de Casta, 3,021 m s.n.m.). De acuerdo con Tauchen et al. (2016), las plantas expuestas a alta radiación ultravioleta y condiciones de estrés en altitudes elevadas tienden a incrementar la producción de polifenoles y flavonoides como mecanismo de fotoprotección y neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS).

Desde el punto de vista bioquímico, la positividad observada en la prueba de Shinoda sugiere la presencia de flavonoides, lo cual es coherente con el porcentaje de inhibición registrado en el ensayo DPPH. La capacidad antioxidante de estos compuestos se relaciona con su estructura química, que permite la donación de electrones y la estabilización del radical libre mediante deslocalización electrónica, mecanismo descrito en estudios como el de Wiliantari et al. (2022).

La elevada concentración de compuestos fenólicos, particularmente flavonoides, podría estar asociada a factores ecofisiológicos propios del lugar de recolección (San Pedro de Casta, 3,021 m s.n.m.). De acuerdo con Jan Tauchen et al. (2016), las plantas expuestas a alta radiación ultravioleta y condiciones de estrés en altitudes elevadas tienden a incrementar la producción de polifenoles y flavonoides como mecanismo de fotoprotección y neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS).

4.2.5. Implicancias académicas, terapéuticas y biotecnológicas

Los hallazgos del presente estudio presentan implicancias relevantes en distintos niveles. En primer lugar, desde una perspectiva fitoquímica, este trabajo aporta uno de los primeros reportes cuantitativos del perfil fitoquímico de *Malesherbia splendens*, contribuyendo al conocimiento químico de especies peruanas nativas aún escasamente estudiadas. Esta caracterización amplía la información disponible sobre el género y sienta bases para futuras investigaciones comparativas dentro de Passifloraceae.

En segundo lugar, en el ámbito terapéutico, el contenido elevado de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante observada sugieren que el extracto podría constituir una fuente potencial de metabolitos bioactivos. Considerando que el estrés oxidativo participa en procesos inflamatorios y en el envejecimiento celular (Tan et al., 2018), la identificación y caracterización estructural de los compuestos responsables de esta actividad representa una línea de investigación futura relevante.

Finalmente, desde el enfoque biotecnológico, la capacidad antioxidante evidenciada mediante ensayos *in vitro* y el rendimiento extractivo obtenido permiten considerar a *Malesherbia splendens* como una candidata preliminar para estudios posteriores orientados a su posible aprovechamiento como fuente natural de antioxidantes. En este sentido, la evaluación cuantitativa del contenido fenólico constituye un paso fundamental para estimar el potencial bioactivo de especies vegetales y su proyección en aplicaciones tecnológicas, incluyendo la posibilidad de producir compuestos fenólicos mediante sistemas de cultivo *in vitro* en condiciones controladas.

5. CONCLUSIONES

Se determinó que el extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Malesherbia splendens* Ricardi presenta un perfil fitoquímico caracterizado por una marcada presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, además de triterpenos y esteroles, según el tamizaje cualitativo realizado. La ausencia de alcaloides y saponinas complementa la caracterización fitoquímica preliminar de la especie.

El contenido de polifenoles totales fue de 319 ± 4 mg GAE/g de extracto seco, valor que se sitúa dentro del rango alto reportado para extractos vegetales evaluados mediante metodologías comparables basadas en el reactivo de Folin–Ciocalteu.

La actividad antioxidante mostró un IC_{50} de 188 µg/mL, lo que indica una actividad moderada bajo las condiciones del ensayo DPPH, con una inhibición máxima de 89.75 %. El comportamiento dosis–dependiente observado confirma la capacidad del extracto para neutralizar el radical DPPH.

Los resultados constituyen evidencia preliminar del potencial antioxidante de *Malesherbia splendens*, el cual se encuentra asociado principalmente a la presencia de compuestos fenólicos, en particular flavonoides, identificados en el extracto. No obstante, se requieren estudios farmacológicos específicos y análisis fitoquímicos detallados para establecer con mayor precisión los compuestos individuales responsables de dicha actividad.

6. RECOMENDACIONES

Realizar estudios de fraccionamiento bioguiado e identificación estructural mediante técnicas cromatográficas de alta resolución (HPLC-DAD o HPLC-MS), con el fin de determinar los compuestos fenólicos específicos responsables de la actividad antioxidante observada y establecer su posible correspondencia con metabolitos previamente reportados en el género.

Desarrollar ensayos de actividad antiinflamatoria *in vitro* e *in vivo* que permitan complementar la evaluación antioxidante, considerando el uso tradicional de la especie en afecciones inflamatorias de las vías respiratorias.

Evaluar la toxicidad aguda y la citotoxicidad del extracto hidroalcohólico mediante modelos experimentales adecuados, a fin de establecer márgenes de seguridad antes de proyectar su posible aplicación en formulaciones fitoterapéuticas o nutracéuticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agarwal, A., Kumar, A., Singh, B. K., Trivedi, N., & Jha, K. K. (2016). A review on extraction and phytochemical screening methods. *Research in Pharmacy and Health Sciences, 2*(2), 130-137.

Ajane, G., & Patil, A. S. (2019). Evaluation of antioxidant potential of *Passiflora foetida* extract and quantitative evaluation of its phytochemical content-a possible natural antioxidant. *Pharm. Chem. J, 6*, 14-24.

Albano, G. D., Gagliardo, R. P., Montalbano, A. M., & Profita, M. (2022). Overview of the Mechanisms of Oxidative Stress: Impact in Inflammation of the Airway Diseases. Antioxidants, 11(11), 2237. https://doi.org/10.3390/antiox11112237

Angiosperm Phylogeny Group. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society, 181*(1), 1–20. https://doi.org/10.1111/boj.12385

Aronés-Jara, M. R., Cárdenas-Landeo, E., Luna-Molero, H. R., Barbarán-Vilcatoma, S. M., & Gómez-Quispe, M. (2022). Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú, 88*(2), 165–179. https://doi.org/10.37761/rsqp.v88i2.388

Avello, Marcia, & Suwalsky, Mario. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción), (494)*, 161-172. https://dx.doi.org/10.4067/S0718-04622006000200010

Brack Egg, A. (2000). *Perú biodiversidad y biocomercio: Situación actual y potencial* (Documento de trabajo). Comité Biocomercio Perú (CONAM–UNCTAD–Programa Biotrade).

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology, 28*(1), 25–30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Beltrán, H., Roque, J., & Cáceres, C. (2018). Sinopsis del género *Malesherbia* (Passifloraceae) en el Perú. *Revista Peruana de Biología, 25*(3), 229–240. https://doi.org/10.15381/rpb.v25i3.13408

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry, 239*(1),

70–76. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism, 49*(2), 3–8. https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organization Journal, 5(1), 9–19. https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science, 161*(5), 839-851.

Bouyahya, A., Chamkhi, I., Balahbib, A., Rebezov, M., Shariati, M. A., Wilairatana, P., Mubarak, M. S., Benali, T., & El Omari, N. (2022). Mechanisms, anti-quorum-sensing actions, and clinical trials of medicinal plant bioactive compounds against bacteria: A comprehensive review. Molecules, 27(5), 1484. https://doi.org/10.3390/molecules27051484

Bussmann, R. W., & Glenn, A. (2010). Plantas medicinales utilizadas en Perú para el tratamiento de enfermedades respiratorias. *Revista Peruana De Biología*, *17*(3), 331-346. https://doi.org/10.15381/rpb.v17i3.8

Campos-Rodriguez, J., Acosta-Coral, K., Moreno-Rojo, C., & Paucar-Menacho, L. M. (2023). Maracuyá (*Passiflora edulis*): Composición nutricional, compuestos bioactivos, aprovechamiento de subproductos, biocontrol y fertilización orgánica en el cultivo. *Scientia Agropecuaria, 14*(4), 479-497. https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2023.040

Chávez-Corcuera, G., Gonzáles, P., & Fernandez-Hilario, R. (2024). *Malesherbia anxia* (Passifloraceae, Malesherbioideae), una nueva especie para los Andes centrales de Perú. *Brittonia, 76*, 125–131. https://doi.org/10.1007/s12228-024-09792-0

Chirinos, R., Pedreschi, R., Rogez, H., Larondelle, Y., & Campos, D. (2013). Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Industrial Crops and Products, 47*, 145–152. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.025

Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez T., R., Vázquez F., M., & Radilla V., C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición, 42*(2), 206–212. https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014

de Vargas, F. S., Almeida, P. D., de Boleti, A. P., Pereira, M. M., de Souza, T. P., de Vasconcellos, M. C., Nunez, C. V., Pohlit, A. M., & Lima, E. S. (2016). Antioxidant

activity and peroxidase inhibition of Amazonian plants extracts traditionally used as anti-inflammatory. *BMC complementary and alternative medicine*, *16*, 83. https://doi.org/10.1186/s12906-016-1061-9

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules, 15*(10), 7313-7352. https://doi.org/10.3390/molecules15107313

Erazo, S. (2006). Active metabolites and biological activities from *Malesherbia auristipulata* [Tesis de maestría, Universidad de Chile]. Repositorio Académico de la Universidad de Chile. https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/121089

Fay, M. F., Swensen, S. M., & Chase, M. W. (1997). Taxonomic Affinities of Medusagyne oppositifolia (Medusagynaceae). *Kew Bulletin*, *52*(1), 111–120. https://doi.org/10.2307/4117844

Forum of International Respiratory Societies. (2021). *The global impact of respiratory disease* (3rd ed.). https://firsnet.org/publication/the-global-impact-of-respiratory-disease-3rd-edition/

Gamarra Gómez, P. R. (2012). Estudio etnobotánico del distrito de Marca, Recuay – Áncash [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio Institucional Cybertesis UNMSM. https://hdl.handle.net/20.500.12672/972.

GBIF.org (8 December 2025) GBIF Occurrence Download https://doi.org/10.15468/dl.ggz7us

Gengler, K. M., & Crawford, D. J. (2000). Genetic diversities of four little-known species of *Malesherbia* (Malesherbiaceae) endemic to the arid inter-Andean valleys of Peru. *Brittonia, 52*(4), 303–310. https://doi.org/10.2307/2666581

Gengler-Nowak, K. M. (2003). Molecular Phylogeny and Taxonomy of Malesherbiaceae. *Systematic Botany*, *28*(2), 333–344. http://www.jstor.org/stable/3094002

Godlewska, K., Pacyga, P., Szumny, A., Szymczycha-Madeja, A., Wełna, M., & Michalak, I. (2022). Methods for Rapid Screening of Biologically Active Compounds Present in Plant-Based Extracts. *Molecules, 27*(20), 7094. https://doi.org/10.3390/molecules27207094

Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes, 11*(8), 2248. https://doi.org/10.3390/pr11082248

Harborne, J. B. (1998). Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant

analysis (3rd ed.). Chapman & Hall / Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5570-7

Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. Archives of Toxicology, 97, 2499–2574. https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9

Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. Journal of food science and technology, 48(4), 412–422. https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1

Keita, K., Darkoh, C., & Okafor, F. (2022). Secondary plant metabolites as potent drug candidates against antimicrobial-resistant pathogens. SN Applied Sciences, 4, 209. https://doi.org/10.1007/s42452-022-05084-y

León, B. (2006). Malesherbiaceae endémicas del Perú. *Revista Peruana de Biología, 13*(2), 407–408.

Lock de Ugaz, O. (1994). Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales [2ª edición]. Fondo Editorial, Pontificia Universidad Católica del Perú. https://hdl.handle.net/20.500.14657/181719

Mehmood, A., Javid, S., Khan, M.F. et al. *In vitro* total phenolics, total flavonoids, antioxidant and antibacterial activities of selected medicinal plants using different solvent systems. *BMC Chemistry 16*, 64 (2022). https://doi.org/10.1186/s13065-022-00858-2

Molole, G.J., Gure, A. & Abdissa, N. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of Commiphora mollis (Oliv.) Engl. resin. *BMC Chemistry 16*, 48 (2022). https://doi.org/10.1186/s13065-022-00841-x

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26*(2), 211-219.

Nastasi, J. R. (2025). Colourimetric Assays for Assessing Polyphenolic Phytonutrients with Nutraceutical Applications: History, Guidelines, Mechanisms, and Critical Evaluation. Nutraceuticals, 5(4), 40. https://doi.org/10.3390/nutraceuticals5040040

Núñez, A. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana de Salud Pública, 37*(Supl.), 644–660.

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal*

of Nutritional Science, 5, e47. https://doi.org/10.1017/jns.2016.41

Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *Journal of agricultural and food chemistry*, *71*(46), 17543–17553. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022

Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science : IJBS*, *4*(2), 89–96.

Quispe, Y., Callacondo, D., Miranda, C., Suárez, S., Perea, M., Tarazona, J., & Vaisberg, A. (2017). Screening of Peruvian medicinal plants for tyrosinase inhibitory properties: Identification of tyrosinase inhibitors in Peruvian medicinal plants. *Pharmacognosy Research, 9*(Suppl 1), S54–S61. https://doi.org/10.4103/pr.pr_42_17

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*, *26*(9-10), 1231–1237. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3

Ricardi, S.M. (1967). Revisión taxonómica de las Malesherbiáceas. *Gayana Botánica 16*(1): 1–139.

Ringuelet, J. A., & Viña, S. (Coords.). (2013). *Productos naturales vegetales*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.

Rogers, L. K., & Cismowski, M. J. (2018). Oxidative stress in the lung – The essential paradox. *Current Opinion in Toxicology, 7*, 37–43. https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.09.001

Ruiz, S., Venegas, E., Valdiviezo, J., & Plasencia, J. (2018). Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante *in vitro* del zumo de "pur pur" (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) (Passifloraceae). *Arnaldoa, 25*(3), 1003–1014. https://doi.org/10.22497/arnaldoa.253.25312

Salas Murrugarra, M. (2018). El reconocimiento jurídico del patrimonio biocultural colectivo de los pueblos indígenas. Cultura, biodiversidad y marco normativo. *ANTROPOLOGÍA ANDINA Muhunchik – Jathasa, 2*(1), 23–43. https://doi.org/10.59159/2015/189

Samudin, M. I. Z., Abdul Aziz, M. Y., & Nurhayati, Y. (2022). Influence of extraction solvents on total phenolic content and antioxidant activity of *Passiflora edulis* Sims

extract. *Journal of Agrobiotechnology, 13*(2), 1–9. https://doi.org/10.37231/jab.2022.13.2.291

Saravanabavan, N., Salwe, K. J., Sudar Codi, R., & Kumarappan, M. (2020). Herbal extraction procedures: need of the hour. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology, 9*(7), 1135–1139. https://doi.org/10.18203/2319-2003.ijbcp20202566

Sarker, S. D., & Nahar, L. (2012). An introduction to natural products isolation. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 864, 1–25. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_1

Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga Latha, L. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM, 8(1), 1–10.

Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Liew, W. P., & Sulaiman Rahman, H. (2018). Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. *Frontiers in pharmacology*, *9*, 1162. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01162

Tauchen, J., Bortl, L., Huml, L., Vlkova, E., Vrchotova, N., Tlapak, P., & Marsik, P. (2016). Phenolic composition, antioxidant and anti-proliferative activities of edible and medicinal plants from the Peruvian Amazon. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *26*(6), 728–737. https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.03.016

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39*(1), 44–84. https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001

Wiliantari, S., Iswandana, R., & Elya, B. (2022). Total polyphenols, total flavonoids, antioxidant activity and inhibition of tyrosinase enzymes from extract and fraction of *Passiflora ligularis* Juss. *Pharmacognosy Journal, 14*(3), 672–680. https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.86

Wink, M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines, 2*(3), 251-286.

ANEXOS

ANEXO 1. Constancia de identificación botánica de Ma*lesherbia splendens* Ricardi.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año de la Recuperación y Consolidación de la Economía Peruana"

CONSTANCIA N° 225-USM-MHN-2025

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

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Cristian Jesus Cuadra Carrasco**, egresado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como: *Malesherbia splendens* Ricardi y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl

FAMILIA : Passifloraceae Juss. ex Roussel

GÉNERO : *Malesherbia* Ruiz & Pav.

ESPECIE : *Malesherbia splendens* Ricardi

Nombre vulgar: "Verónica"

Procedencia: San Pedro de Casta, Huarochiri, Lima

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.

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

Lima, 08 de julio de 2025

MUSEO DE HISTORIA NATURAL - USM - JEFE Herbario San Marcos

Dra. Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María, Lima, Perú
Código postal Lima 15072

Celular: +51 932 040 566
Lunes a Viernes 8:00 - 15:45

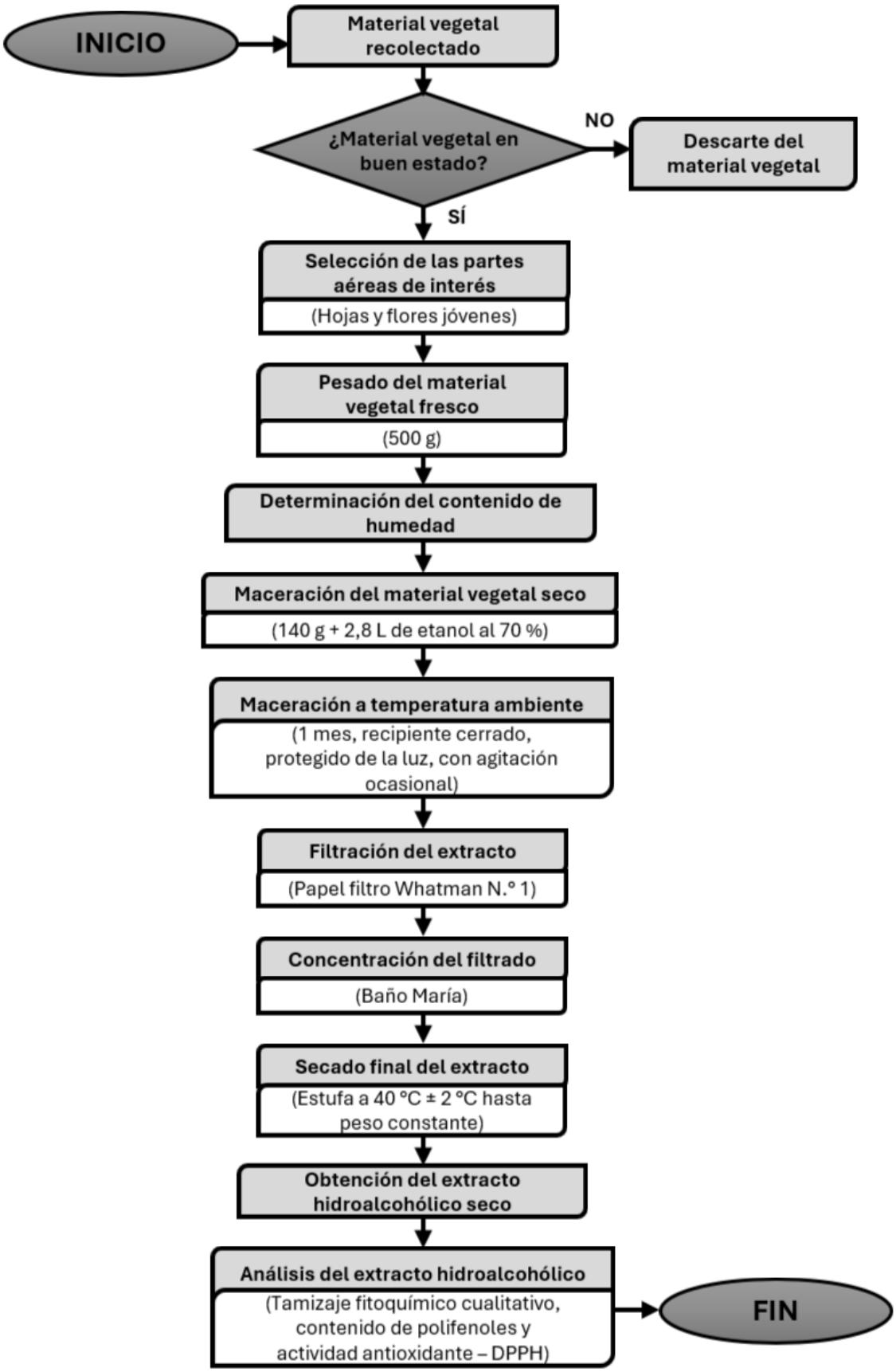
e-mail: herbariousm@unmsm.edu.pe
https://museohn.unmsm.edu.pe/herbario.html

ANEXO 2. Registro fotográfico del material vegetal llevado para identificación.

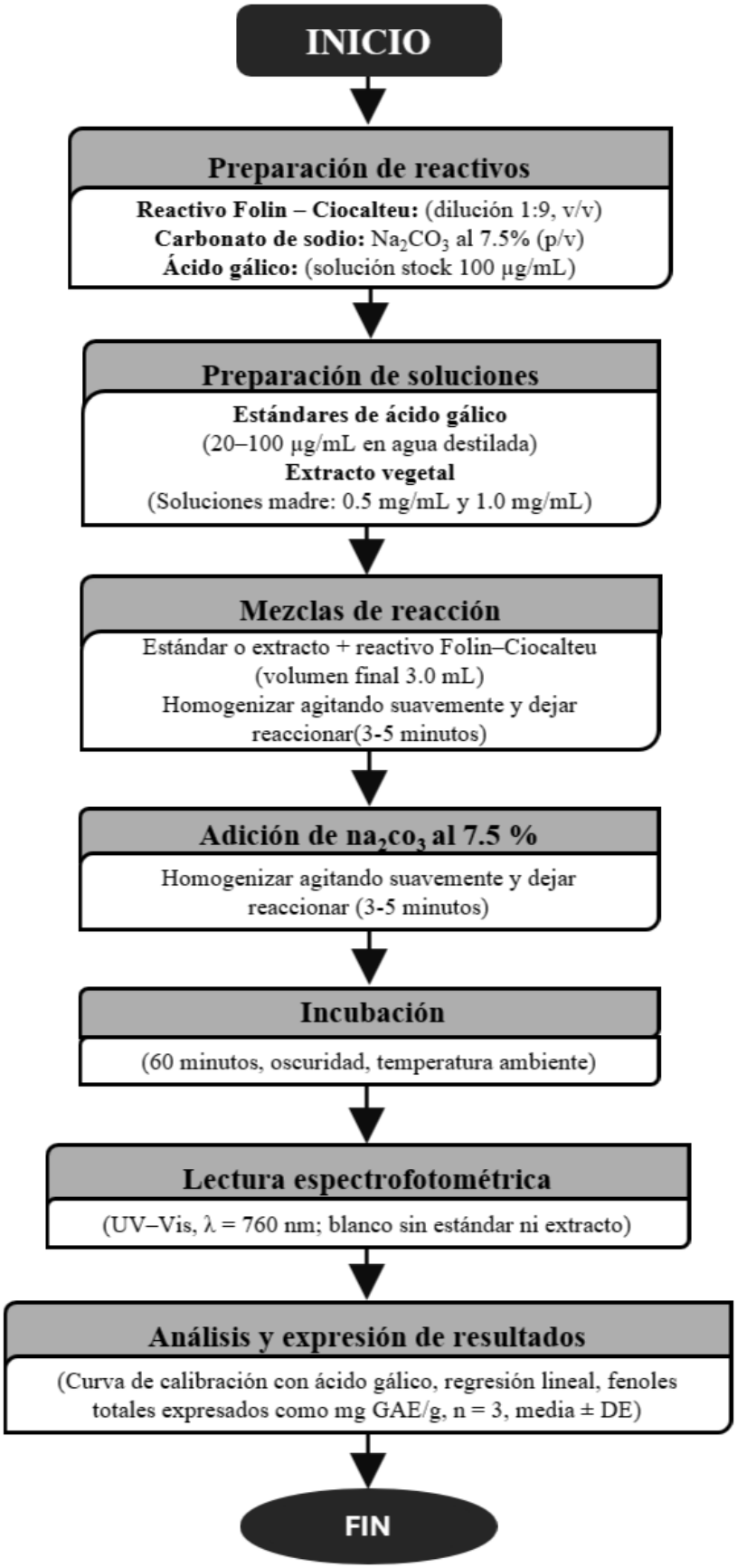


Material aéreo de *Malesherbia splendens* Ricardi recolectado y remitido al Museo de Historia Natural para su identificación taxonómica. En la muestra se observan estructuras florales, hojas y porción de tallo.

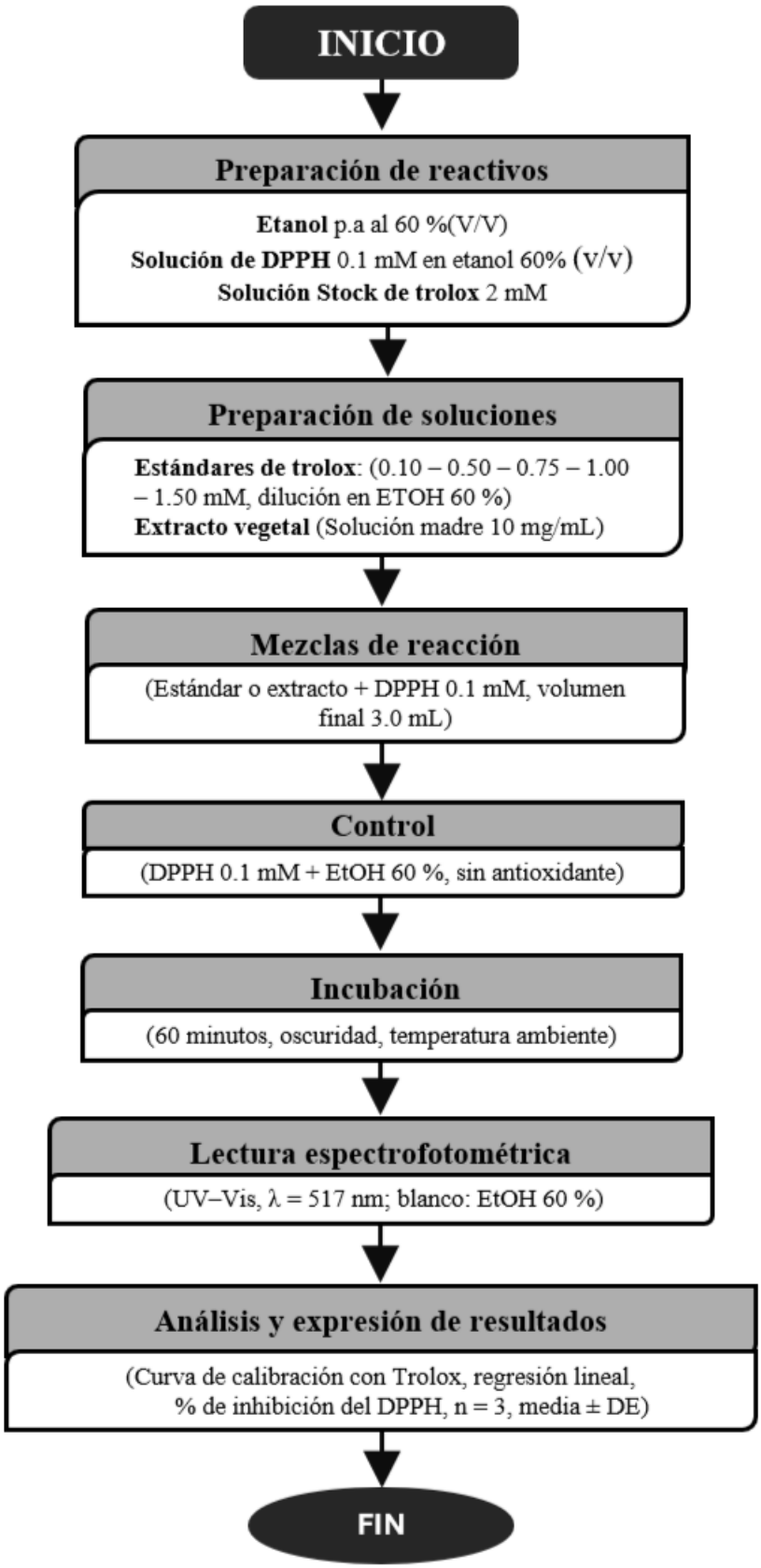
ANEXO 3. Flujograma del proceso de extracción hidroalcohólica de *Malesherbia splendens* Ricardi.



ANEXO 4. Flujograma de polifenoles totales (Folin–Ciocalteu).



ANEXO 5. Flujograma del procedimiento experimental para la evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico mediante el método DPPH.

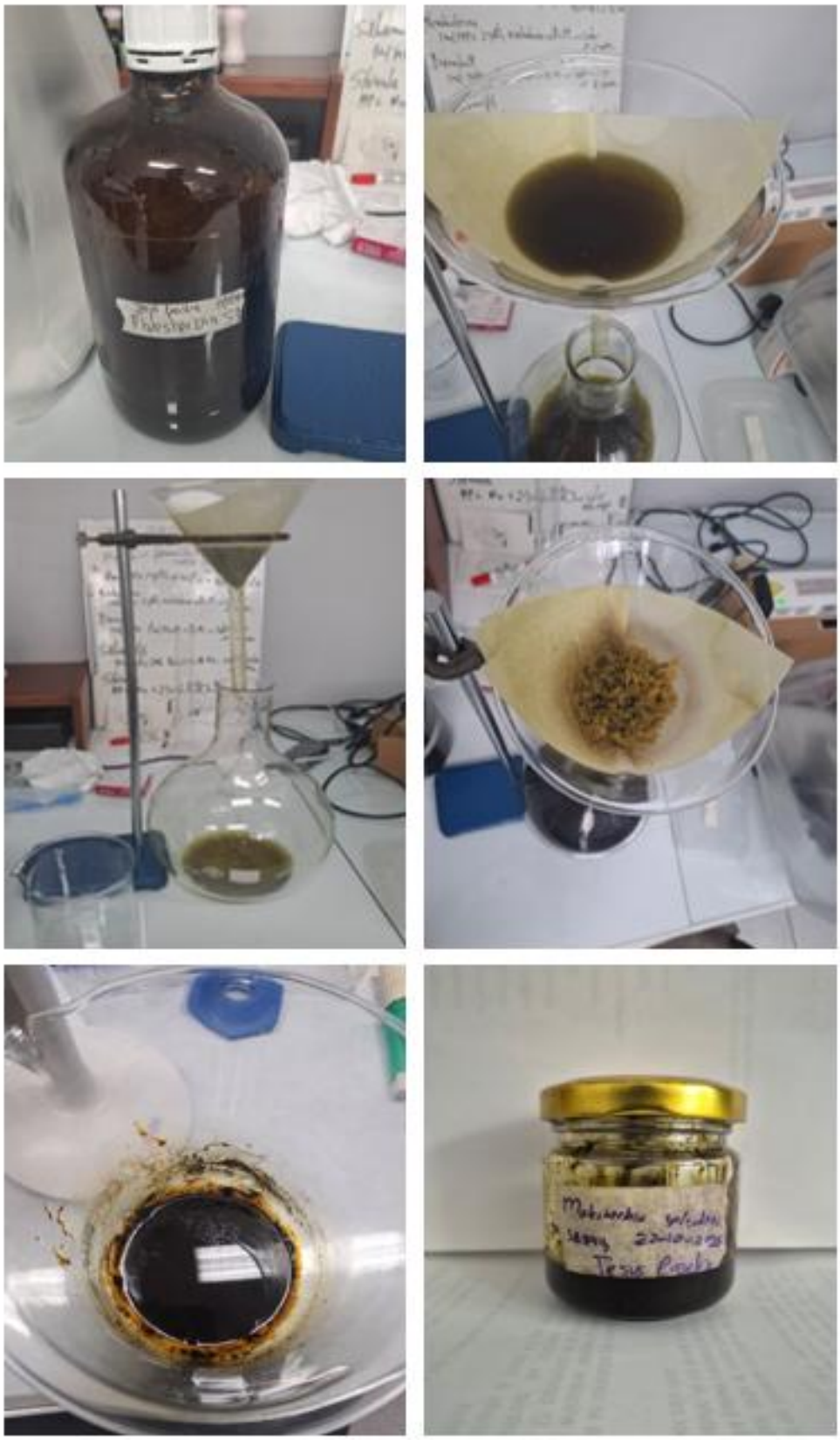


ANEXO 6. Registro fotográfico del acondicionamiento y secado del material vegetal de *Malesherbia splendens* Ricardi.

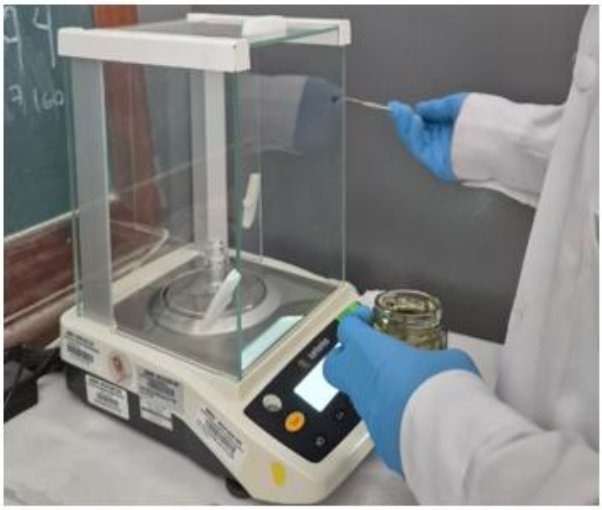


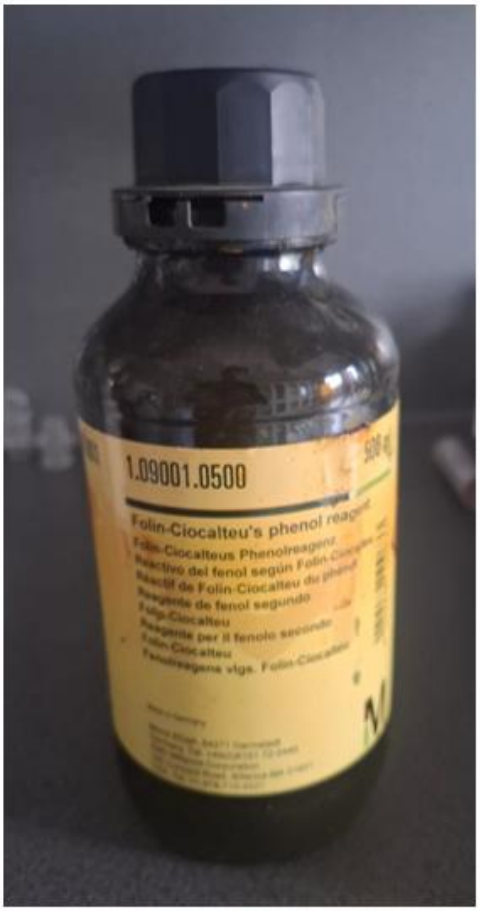
A. Secado del material vegetal en estufa a temperatura de 40°C. **B.** Control de temperatura durante el proceso de secado del material vegetal. **C.** Pesado del material vegetal seco para el control de masa constante. **D.** Fraccionamiento del material vegetal seco previo a la maceración en etanol al 70 %.

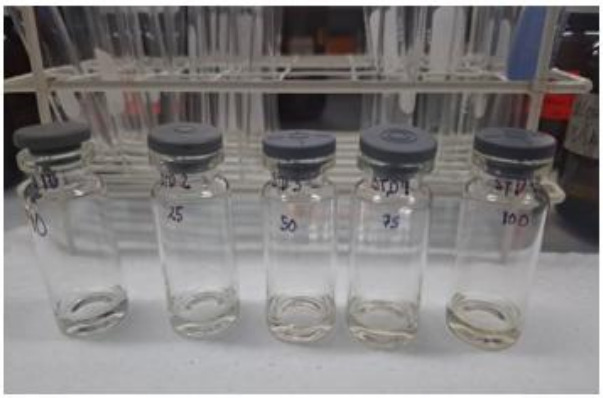
ANEXO 7. Registro fotográfico de la filtración, concentración y obtención del extracto hidroalcohólico de *Malesherbia splendens* Ricardi.

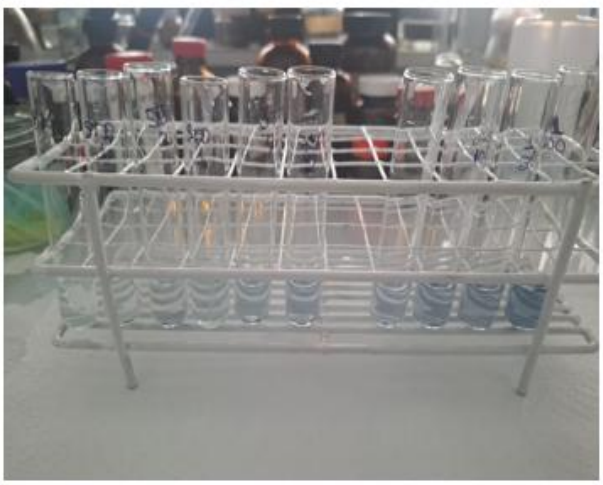


ANEXO 8. Registro fotográfico del ensayo de polifenoles totales (Folin–Ciocalteu).









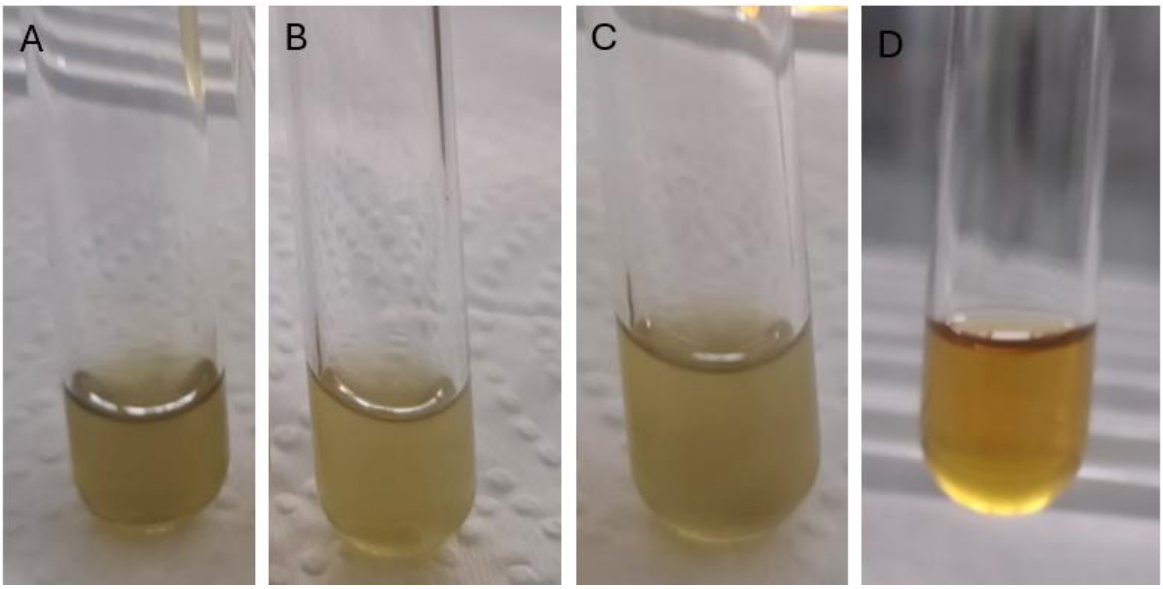


ANEXO 9. Registro fotográfico del ensayo de actividad antioxidante mediante el método DPPH.



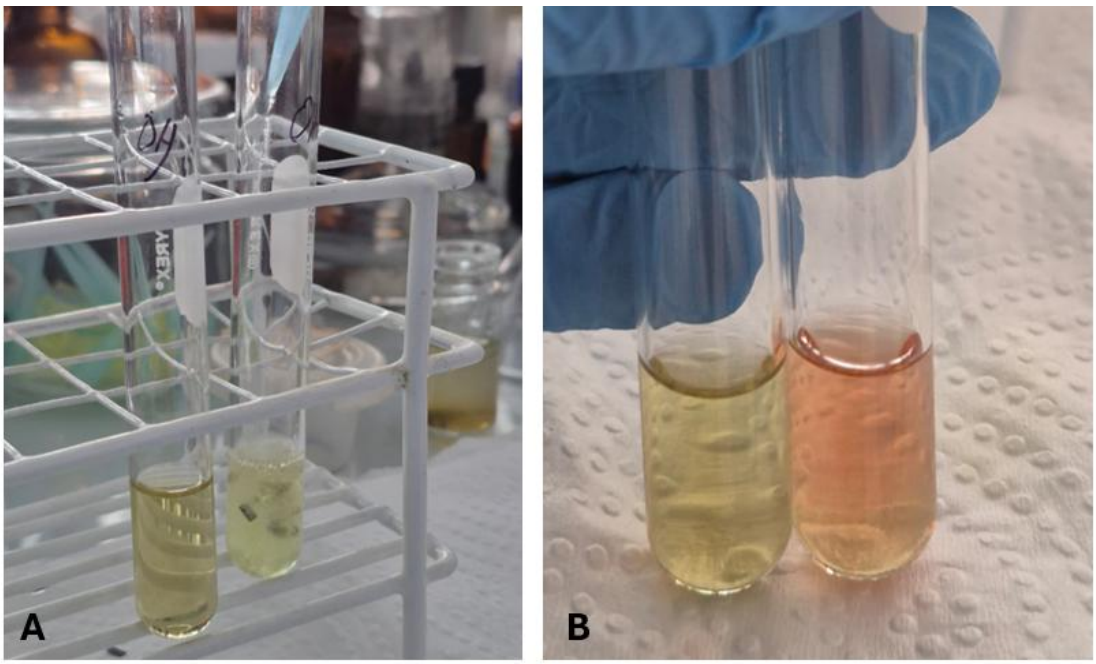
ANEXO 10. Tamizaje fitoquímico

10.1. Ensayo cualitativo de alcaloides



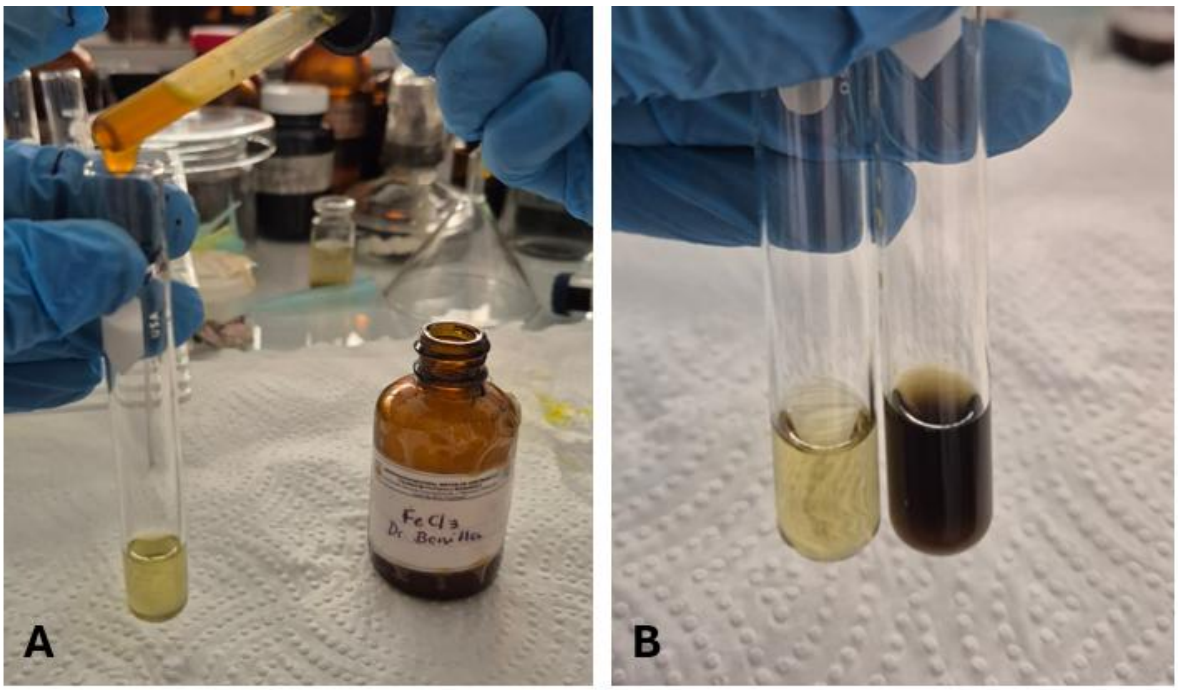
A. Extracto hidroalcohólico acidulado empleado para el ensayo de alcaloides. **B.** Ensayo cualitativo de alcaloides con reactivo de Dragendorff. **C.** Ensayo cualitativo de alcaloides con reactivo de Mayer. **D.** Ensayo cualitativo de alcaloides con reactivo de Wagner.

10.2. Ensayo de flavonoides (prueba de Shinoda)



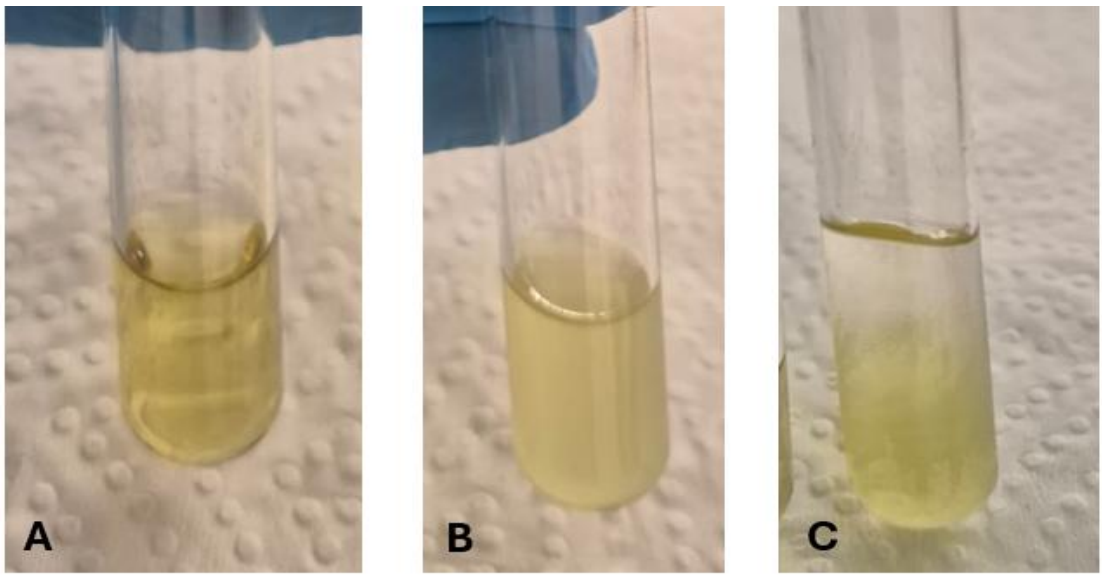
A. Izquierda. Extracto hidroalcohólico sin adición de reactivos. **Derecha.** Reacción de la muestra. **B.** Ensayo cualitativo de flavonoides tras la reacción, en comparación con el control.

10.3. Ensayo de compuestos fenólicos



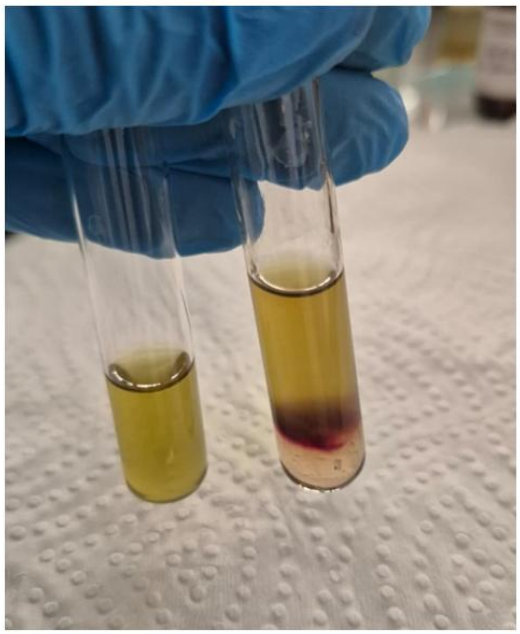
A. Solución del extracto durante la adición del reactivo de cloruro férrico. **B.** Ensayo cualitativo de compuestos fenólicos tras la reacción con cloruro férrico.

10.4. Análisis cualitativo de flavonoides mediante las pruebas de Rosenheim y leucoantocianidinas



A. Extracto hidroalcohólico al 70 % sin adición de reactivos. **B.** Prueba de leucoantocianidinas. **C.** Prueba de Rosenheim.

10.5. Prueba de Molisch



Extracto hidroalcohólico al 70 % sin reaccionar y ensayo de Molisch tras la reacción.

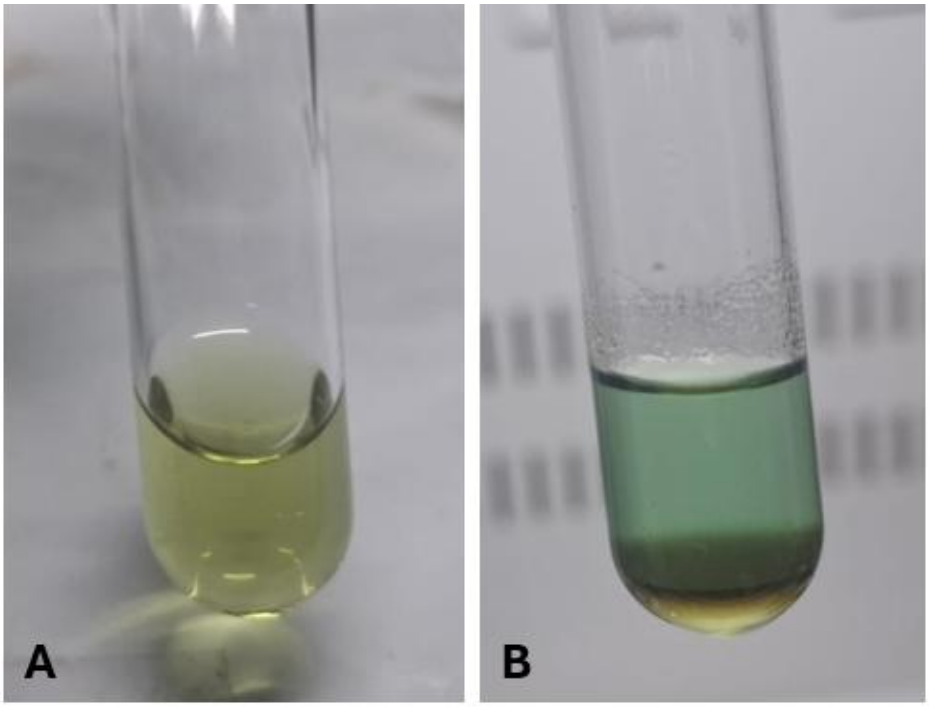
10.6. Prueba de Borntrager





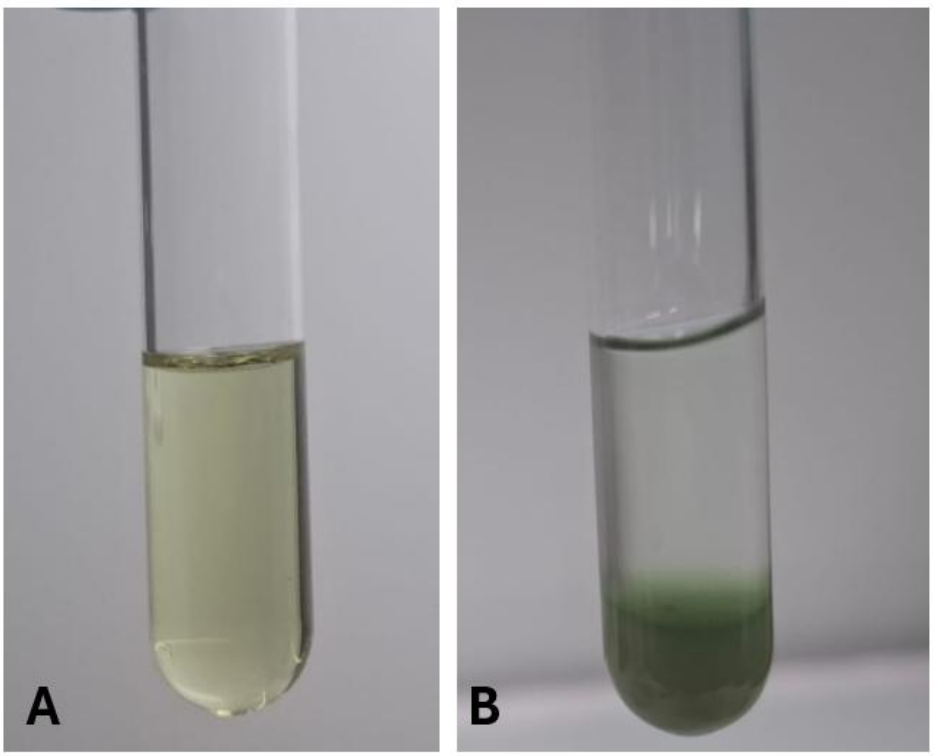
A. Extracto hidroalcohólico tras el tratamiento con hidróxido de sodio y calentamiento.
B. Fase orgánica obtenida tras la extracción y tratamiento con amoníaco.

10.7. Ensayo de Salkowski



A. Fase orgánica obtenida tras la partición líquido–líquido del extracto. **B.** Ensayo de Salkowski tras la adición de ácido sulfúrico concentrado.

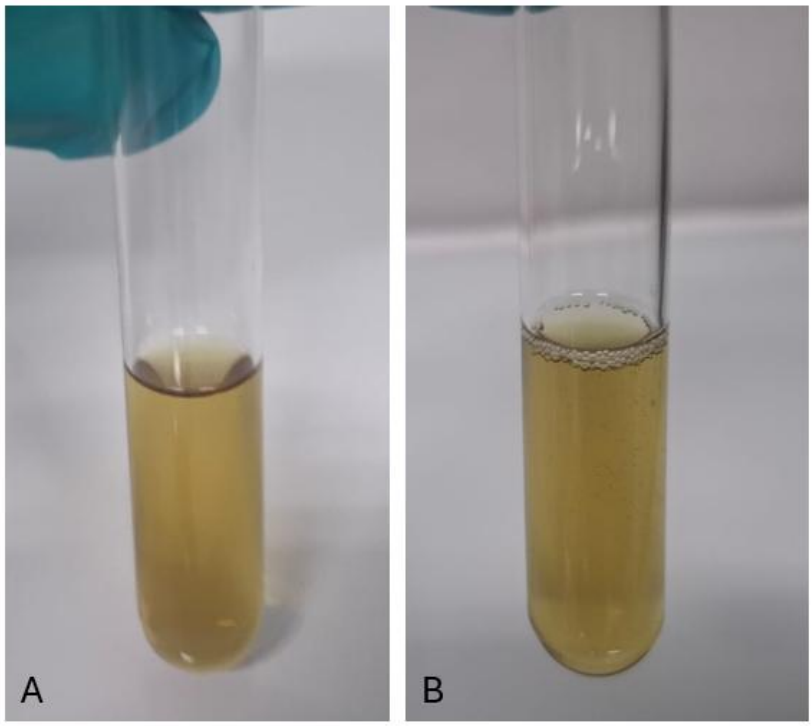
10.8. Ensayo de Liebermann–Burchard



A) Fase orgánica obtenida tras la partición con hexano. **B)** Ensayo de Liebermann–Burchard

tras la adición de anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado.

10.9. Saponinas (prueba de espuma)



A. Extracto hidroalcohólico diluido en agua destilada. **B.** Ensayo de espuma tras la agitación al cabo de 10 minutos.