

---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

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

**ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS**  
**FISICOQUÍMICAS Y FITOQUÍMICAS DE LAS HOJAS**  
**DE *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (MATICO)**

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

**AUTORA**

**LÓPEZ HORNA, PERLA**

**ASESOR**

**Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO**

**TRUJILLO – PERÚ**  
**2018**

## **JURADO EVALUADOR DE TESIS**

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

**Presidente**

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

**Miembro**

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

**Miembro**

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

**Asesor**

## AGRADECIMIENTO

A **Dios**, por protegerme y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de mi vida.

A **mi madre**, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, valores y por la motivación que me brindó para ser una persona de bien inculcarme valores, principios y sobre todo perseverancia, todo ello sin pedir nada a cambio.

A mis **docentes**, por su apoyo y motivación para la culminación de mis estudios y para la elaboración de esta tesis.

## **DEDICATORIA**

A mi hermana **Ana** por ser un ejemplo para mí y estar apoyándome de una u otra manera para seguir mi carrera profesional a pesar de las dificultades que se presentaron.

A mi **Tía, Tiofila** y **prima Maura** que siempre estuvieron conmigo apoyándome en todo momento y gracias a ellas se me facilitó la realización de esta tesis.

## RESUMEN

La presente tesis es de tipo descriptivo y enfoque cualitativo; fue realizado con el objetivo de determinar las características fisicoquímicas y fitoquímicas de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico). La cual se obtuvo del Distrito de Usquil, Otuzco - La Libertad, su identificación taxonómica fue por el Herbario *Truxillensis* (código único N° 58438). Para la identificación de las características fisicoquímicas se determinó ciertos aspectos que sirven para establecer parámetros de calidad de la especie vegetal. En el estudio fitoquímico se realizó según técnicas de Miranda M, Cuellar A. el cual utiliza tres tipos de extractos (clorofórmico, etanólico y acuoso). Se llegó a la conclusión que existe presencia de aminoácidos, aminos, triterpenos, azúcares reductores, flavonoides, resinas, taninos y alcaloides.

Palabras claves: Características fisicoquímicas, características fisicoquímicas, taxonómica, *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

## ABSTRACT

The present thesis is of a descriptive type and qualitative approach; was carried out with the objective of determining the physicochemical and phytochemical characteristics of the *Piper acutifolium* Ruiz & Pav leaf. (Matico) Which was obtained from the District of Usquil, Otuzco - La Libertad, its taxonomic identification was by the Herbarium Truxillensis (unique code N ° 58438). For the identification of physicochemical characteristics certain aspects were determined that serve to establish quality parameters of the plant species. In the phytochemical study was performed according to techniques of Miranda M, Cuellar A. which uses three types of extracts (chloroform, ethanolic and aqueous). It was concluded that there is presence of amino acids, amines, triterpenes, reducing sugars, flavonoids, resins, tannins and alkaloids.

Keywords: Physicochemical characteristics, phytochemical characteristics, taxonomic, *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTO .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT.....	vi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1. Antecedentes .....	6
2.2. Bases Teóricas .....	8
III. METODOLOGÍA.....	12
3.1. Diseño de la investigación .....	12
3.2. Población y muestra .....	12
3.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores .....	13
3.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos .....	14
3.5. Plan de análisis de datos .....	20
3.6. Matriz de consistencia... ..	21
3.7. Principios éticos... ..	22
IV. RESULTADOS .....	23
4.1. Resultados .....	23
4.2. Análisis de resultados .....	28
V. CONCLUSIONES .....	32
5.1. Conclusiones .....	32
5.2. Recomendaciones .....	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	34
ANEXOS .....	38

## CONTENIDO DE TABLAS

<b>Tabla 01.</b> Características fisicoquímicas de la hoja de <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (Matico) .....	23
<b>Tabla 02.</b> Metabolitos secundarios presentes en el extracto clorofórmico de la hoja de <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (Matico).....	24
<b>Tabla 03.</b> Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la hoja de <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (Matico).....	25
<b>Tabla 04.</b> Metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de la hoja de <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (Matico).....	26
<b>Tabla 05.</b> Metabolitos secundarios presentes de todos los extractos de la hoja de <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (Matico).....	27

## **I. INTRODUCCIÓN**

El aprovechamiento de las plantas medicinales por el hombre consta en numerosos testimonios escritos pertenecientes a distintas civilizaciones y culturas. Las plantas medicinales fueron las primeras medicinas utilizadas para lograr curar las enfermedades que surgían en esas épocas que aquejaban al hombre. Al desarrollarse la escritura y con la aparición del papiro, la información de cómo se usaban estas plantas fueron pasando de generación en generación hasta nuestros días <sup>(1)</sup>.

Debido a todos estos conocimientos, en la actualidad, se está haciendo una tendencia en los países desarrollados el volver a emplear los productos naturales en el tratamiento de diversas afecciones; en lo que se destaca el importante papel de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en cuanto a la utilización de la fitoterapia dentro de los programas de salud de los distintos países<sup>(1,2)</sup>.

El Perú, posee un enorme conocimiento sobre plantas medicinales; diversos pueblos han utilizado desde tiempos inmemoriales las plantas medicinales, asignándoles nombres que conocemos como nombres comunes o nombres vulgares es por ello que el estudio de plantas se convierte en una necesidad orientada a salvaguardar y proteger esos saberes tradicionales <sup>(3)</sup>.

La flora peruana comprende alrededor de 25.000 especies, una parte importante de esta flora se desarrolla en los valles interandinos de Perú. Las comunidades campesinas de los Andes tienen en su territorio una gran diversidad de especies silvestres, generalmente ubicadas en sus zonas altas, laderas y zonas ribereñas, que son utilizadas como plantas medicinales por sus propiedades curativas <sup>(3,4)</sup>.

Debido a que existen muchas plantas a las cuales se les atribuyen ciertas propiedades terapéuticas, es necesario estudiar tanto las características fisicoquímicas, como las fitoquímicas de las especies vegetales (la droga en sí), permitiéndonos reconocer cuales son los metabolitos que pueda llegar a contener dentro de su anatomía, ya que estos componentes no son exclusivos de una parte de la planta sino de cualquier parte (hojas, fruto, tallo, semilla, etc.) <sup>(3,4)</sup>.

Reconociendo estas características, permite a la ciencia farmacéutica tener una base científica sobre el conocimiento de las materias primas de origen biológico que el farmacéutico o la industria farmacéutica emplearán para la preparación de medicamentos, logrando conocer los aspectos organolépticos, fisicoquímicos, botánicos, naturaleza de sus principios activos, actividad farmacológica y sus principales aplicaciones <sup>(5,6)</sup>.

Dentro del estudio de las características fisicoquímicas se determinó características morfológicas así como también sus características organolépticas, esta parte del estudio es de suma importancia puesto que todas las especies vegetales se diferencian entre sí, y el *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) no es la excepción, y es ahí donde radica la importancia de un estudio de esta naturaleza <sup>(5,6)</sup>.

Con la ayuda de los diferentes ensayos de determinación fisicoquímica nos permite identificar los metabolitos que existen dentro de una especie vegetal, los cuales pueden ser de 2 tipos: metabolitos primarios y secundarios <sup>(5,6)</sup>.

Los metabolitos primarios comprenden los procesos químicos que la planta debe realizar para así lograr sobrevivir y reproducirse; en cambio los metabolitos secundarios son compuestos orgánicas que no cumplen ningún rol fisiológico en

los vegetales en su crecimiento y el desarrollo, generalmente se encuentran en cantidades relativamente pequeñas y su producción puede ser extendida o restringida a familias, géneros o especies particulares <sup>(7,8)</sup>.

Para poder determinar los metabolitos que tiene una especie vegetal, es necesario e indispensable realizar un tamizaje fitoquímico, ya que gracias a estos métodos se puede explicar que metabolitos contiene el organismo vegetal y así explicar las propiedades terapéuticas que pueda llegar a tener <sup>(7,8)</sup>.

La Fitoquímica tiene una gran importancia para la determinación de los componentes activos de las plantas medicinales, su cuantificación y análisis de los efectos beneficiosos y perjudiciales a la salud humana; esta ciencia trata también sobre los métodos de obtención de esos componentes activos, su clasificación de acuerdo al grupo funcional a que pertenece y estudia los métodos analíticos para comprobar su calidad <sup>(8)</sup>.

El tamizaje fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta (metabolitos). Esta herramienta que sirve para determinar los componentes fitoquímicos de una especie vegetal consiste en la identificación de los fitoconstituyentes de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones químicas de color, precipitación y otros tipos de apreciaciones. Las ventajas del tamizaje fitoquímico es que permite la evaluación rápida con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo <sup>(8,9)</sup>.

El tamizaje fitoquímico que se le realizará a las hojas de la especie vegetal *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) busca determinar la presencia de determinadas familias de metabolitos secundarios de interés biológico y farmacológico, en

dependencia de sus características estructurales y solubilidad de cada uno de ellos, que permitan su identificación en uno u otro solvente (agua, alcohol y cloroformo)<sup>(9)</sup>.

El *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) común mente conocido en nuestro país como matico, el cual sus propiedades terapéuticas que se le atribuyen lo han hecho popular en su uso interno para aliviar afecciones estomacales y bronquiales, como externo por sus propiedades cicatrizantes, esta es una especie vegetal fácilmente reconocible por las características que presenta, ramas de color verde amarillento, sus hojas son estrechas elípticas y aromáticas; en cuanto a sus flores y frutos son diminutos <sup>(10,11)</sup>.

En Latinoamérica se reconoce el matico por sus propiedades astringentes y se utiliza para la detención de hemorragias, el alivio de úlceras y diarrea. Cuando se tienen problemas digestivos es muy efectiva aliviando las náuseas, el dolor de estómago, y el vómito. El uso medicinal del matico también se da en el alivio de resfríos, tos, bronquitis, neumonía y otros problemas respiratorios <sup>(12)</sup>.

En la presente investigación se pretende contribuir al estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas de las hojas de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) ya que se conocerán cuáles son los fitoconstituyentes que esta especie contiene en su parte anatómica ya mencionada, lo cual servirá para que posteriormente esta planta pueda ser usada en otros estudios, pero ahora con una base sólida sobre sus componentes, lo cual permitiría realizar nuevos avances en su estudio <sup>(11,12)</sup>.

La presente tesis tiene como problemática la siguiente pregunta “¿Qué características fisicoquímicas y fitoquímicas presenta las hojas de *Piper*

*acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico)?”, por lo cual se busca resolver la duda, conforme avance la investigación.

Se justifica la investigación debido a que se pretende contribuir al estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas que presenta las hojas de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico), para que posteriormente este estudio sirva como base a otros investigadores en la realización de nuevos aportes científicos, ya sea experimentales u otros.

**Objetivo General:**

Identificar las características fisicoquímicas y fitoquímicas de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico)

**Objetivos Específicos:**

- Identificar las características fisicoquímicas de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).
- Identificar los metabolitos secundarios en el extracto clorofórmico de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).
- Identificar los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).
- Identificar los metabolitos secundarios en el extracto acuoso de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).
- Comparar los metabolitos secundarios del extracto clorofórmico, etanólico y acuoso de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1. Antecedentes:

Alessandra G et al en su estudio de tipo experimental del 2009, realizó un análisis fitoquímico a una planta del mismo género vegetal (*Piperaceae*), en este caso su especie vegetal analizada fue *Piper obliquum* Ruiz & Pavon del este de Ecuador evidenciando que contiene unos componentes denominados safrol y dillapiol en su aceite esencial, además se evidencia la presencia de los metabolitos secundarios como lo son los triterpenos, cumarinas, flavonoides, azúcares reductores, lo cual nos sirve de antecedente para la especie vegetal, indicando los posibles metabolitos que se encontrará en el tamizaje fitoquímico <sup>(13)</sup>.

Uno de los antecedentes de esta especie vegetal, es la de la autora Campos A. quien realizó una investigación científica de tipo experimental titulada evaluación biológica, aislamiento y determinación estructural del principio activo larvicida de *Piper acutifolium* R&P. en el año 2013 en la Universidad Peruana Cayetano Heredia teniendo como objetivo determinar la propiedad larvicida que pueda tener esta especie vegetal, llegando a la conclusión que la especie vegetal si presenta esta actividad planteada <sup>(14)</sup>.

Juárez A et al en el año 2015 en su investigación La Oscurana (Cajamarca), un bosque relicto más para conservar en las vertientes occidentales andinas del norte del Perú nombra a la especie vegetal *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. dentro de su lista de taxa presentes en este bosque, lo cual indica que esta especie también se encuentra en otros lugares del Perú, por lo cual es necesario realizarle estos tipos de estudios <sup>(15)</sup>.

En el año 2016 Jennifer B. et al realizaron un estudio de la especie *Piper marginatum* encontrando mediante tamizaje fitoquímico que esta especie vegetal contiene amidas y flavonoides, lo cual nos da un indicio de lo que debe contener la especie vegetal *Piper acutifolium* Ruiz & Pav, puesto que ambas especies vegetales pertenecen al mismo género, con lo cual permitiría direccionar la presente investigación y llegar a los objetivos planteados <sup>(16)</sup>.

Otro estudio encontrado sobre el género *Piper* (*Piper boehmeriifolium*) es el de Tie L. et al en el año 2017 quienes realizaron un estudio fitoquímico encontrando que uno de los metabolitos secundarios que puede presentar este género es la presencia de terpenos, por lo cual sería posible encontrar también estos metabolitos en la especie vegetal de esta investigación <sup>(17)</sup>.

## **2.2. Bases Teóricas:**

### **Origen:**

El Matico o *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. es un arbusto de unos 4 metros de altura aproximadamente con flores blancas, conocido también con el nombre de pañil o hierba del soldado, debido a que aliviaban las hemorragias causadas por enfrentamientos en la guerra. Es originario de Argentina, Chile, Brasil, Colombia, Paraguay y Bolivia. Se dice que su nombre proviene de un soldado español llamado Matico que la descubrió accidentalmente curando heridos en Perú <sup>(18)</sup>.

### **Determinación de materias extrañas:**

Las drogas vegetales deben estar libres, tanto como sea posible, de moho, insectos y cualquier otra contaminación animal. La cantidad de materia extraña no debe ser superior a la que se norma para cada producto según la monografía en una farmacopea <sup>(19)</sup>.

### **Tamizaje Fitoquímico:**

De acuerdo con este método para la marcha fitoquímica de Miranda Martínez M. & Cuellar Cuellar A. (ver los Anexos del 1 al 4), la muestra es sometida a extracción de solventes de polaridad creciente: Cloroformo, Etanol y agua. Luego se realizará la identificación de los metabolitos secundarios haciendo uso de reactivos de coloración y precipitación según sea el caso<sup>(20,21)</sup>.

### **Ensayo de Liebermann-Burchard:**

Los esteroides se pueden reconocer fácilmente en los análisis fitoquímicos preliminares de muestras vegetales y animales mediante el ensayo de Liebermann-Burchard. En este ensayo, a una solución clorofórmica de la muestra que se analiza, se le agrega un volumen igual de anhídrido acético y una gota de ácido

sulfúrico concentrado (98%). Si hay esteroides, se producen coloraciones verdes, violetas, rojas o azules <sup>(22)</sup>.

#### **Ensayo de Borntrager:**

Permite reconocer en un extracto alcohólico la presencia de quinonas. El ensayo se considera positivo cuando la fase acuosa alcalina se colorea de rosado o rojo<sup>(22,23)</sup>.

#### **Ensayo de Shinoda:**

Permite reconocer la presencia de flavonoides en extractos alcohólicos. Después de la reacción se espera 5 min, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos <sup>(22,23)</sup>.

#### **Ensayo de Tricloruro férrico:**

Permite reconocer la presencia de taninos en un extracto acuoso. Se considera positivo cuando da la siguiente información general:

Desarrollo de una coloración rojo-vino: compuestos fenólicos en general.

Desarrollo de una coloración verde intensa: taninos del tipo pirocatecólicos.

Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos <sup>(22,23)</sup>.

#### **Ensayo de Fehling:**

Este ensayo pone de manifiesto la presencia de azúcares reductores. Se trata de una reacción redox en la que el grupo aldehído (reductor) de los azúcares es oxidado a grupo ácido por el  $\text{Cu}^{2+}$  que se reduce a  $\text{Cu}^+$ , dando un precipitado rojo de óxido cuproso <sup>(22,23)</sup>.

**Ensayo de Dragendorff:**

Permite reconocer alcaloides: Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo III gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera positivo (+), turbidez definida (++), precipitado (+++)<sup>(22,23)</sup>.

**Ensayo de Mayer:**

Permite reconocer alcaloides se considera positivo la presencia de un precipitado<sup>(22,23)</sup>.

**Ensayo de Wagner:**

Permite reconocer alcaloides; cuando es positivo se tienen en cuenta opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado (+++)<sup>(22,23)</sup>.

**Ensayo de Baljet:**

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo <sup>(22,23)</sup>.

**Ensayo de Kedde:**

Permite reconocer en un extracto alcohólico la presencia de glucósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto en etanol se mezcla con 1mL del reactivo y se deja reposar durante 5 a 10 min. En un ensayo positivo se desarrolla una coloración violácea, persistente durante 1 a 2h <sup>(22,23)</sup>.

**Ensayo de Ninhidrina:**

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, se mezcla con 2mL de solución al 2 % de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta de 5-10

minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo <sup>(22,23)</sup>.

#### **Ensayo de Espuma:**

Permite reconocer en un extracto alcohólico la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica <sup>(22,23)</sup>.

#### **Ensayo de Catequinas:**

Se toma una gota de la solución etanólica y se aplica sobre un papel filtro; sobre la mancha se aplicará solución de carbonato de Sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV indica un ensayo positivo <sup>(22,23)</sup>.

#### **Ensayo de Hidroxamato Férrico:**

Se coloca una gota del extracto en la placa, se le agrega una gota de clorhidrato de hidroxilamina disuelto en etanol al 10%; se añaden unas gotas de hidróxido de potasio al 10% en etanol y se calienta a la llama hasta burbujeo; luego una gota de HCl 0.5 mol/L y una gota de cloruro férrico al 1%. El color violeta indica positivo <sup>(22,23)</sup>.

#### **Ensayo de Resinas:**

A 2 mL de extracto etanólico se le añade 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado indica positivo <sup>(22,23)</sup>.

#### **Ensayo de Mucilagos:**

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de una estructura tipo polisacárido, el cual forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para ello se toma una pequeña parte del extracto, se enfría en agua de 0°C a 5°C y si la solución toma consistencia gelatinosa el ensayo es positivo <sup>(22,23)</sup>.

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1. Diseño de la investigación:**

Diseño de una casilla: Estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas; fué de tipo descriptivo, de enfoque cualitativo.

#### **3.2. Población y muestra:**

Se recolectó las hojas de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) del Distrito de Usquil, provincia de Otuzco, Departamento de La libertad (entre los 7°48'58.9" Sur y los 78°25'02.7" Oeste y tiene un altitud de 3018 m.s.n.m.) de una misma población, de la parte aérea de la planta con el fin de preservar la especie.

La planta medicinal seleccionada, se llevó al Herbario *Truxillensis* de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación Taxonómica.

### 3.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
Características fisicoquímicas	Determinar las características fisicoquímicas permite establecer parámetros de calidad de una especie vegetal.	Se determinó <ul style="list-style-type: none"> <li>- Materias extrañas</li> <li>- Humedad Residual</li> <li>- Cenizas Totales</li> <li>- Sustancias solubles en Alcohol y H<sub>2</sub>O</li> <li>- Secado a sombra y estufa</li> </ul>	Porcentaje (%)	Cuantitativa de Razón
Características fitoquímicas.	La investigación fitoquímica permite determinar de manera cualitativa los principales grupos químicos presentes en una planta <sup>(8,9)</sup> .	Reacciones de color, precipitación u otros.	Presencia de: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Alcaloides</li> <li>- Aminoácidos</li> <li>- Aminas</li> <li>- Lactosas</li> <li>- Quinonas</li> <li>- Triterpenos</li> <li>- Azúcares reductores</li> <li>- Catequinas</li> <li>- Cumarinas</li> <li>- Flavonoides</li> <li>- Glicósidos Cardiotónicos</li> <li>- Polisacáridos</li> <li>- Resinas</li> <li>- Saponinas</li> <li>- Taninos</li> </ul>	Cualitativa Nominal

### **3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:**

#### **Material Biológico:**

Hojas de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) del Distrito de Usquil, Provincia de Otuzco, Departamento de La libertad.

#### **Método:**

El análisis de la droga se realizó de acuerdo al método y técnica de la Dra. Miranda Martinez M. & Cuellar Cuellar A., publicado en su Manual de Prácticas de Laboratorio: “Farmacognosia y Productos Naturales” (ver los Anexos del 1 al 4).

#### **Material De Vidrio:**

Se utilizarán los de uso común en el laboratorio.

#### **Equipos:**

- Balanza Analítica
- Balanza Triple Brazo
- Baño María
- Estereoscopio
- Estufa Eléctrica
- Horno mufla
- Molino

#### **Reactivos:**

- Ácido acético glacial 99.8% de pureza, calidad Sigma
- Ácido clorhídrico 37% de pureza, calidad Sigma
- Ácido nítrico 65% de pureza, calidad Sigma
- Ácido sulfúrico 98% de pureza, calidad Sigma
- Agua destilada

- Alcohol 96°
- Alcohol amílico
- Anhídrido acético 98% de pureza, calidad Sigma
- Cloroformo
- Cloruro de mercurio (II) 99.5% de pureza, calidad Sigma
- Cloruro de sodio 99.5% de pureza, calidad Sigma
- Cloruro férrico hexahidratado 97% de pureza, calidad Sigma
- Gelatina from porcine skin, calidad Sigma
- Hidróxido de sodio 98% de pureza, calidad Sigma
- Hipoclorito de sodio al 1%.
- Magnesio metálico
- Ninhidrina
- Nitrato de bismuto 98% de pureza, calidad Sigma
- Yodo 99.8% de pureza, calidad Sigma
- Yoduro de potasio 99% de pureza, calidad Sigma

**Otros:**

- Papel filtro Wattman # 1
- Navajas
- Bisturí
- Luna porta objeto.
- Luna cubre objeto
- Goteros
- Papel tissue.

**Recolección:**

La especie vegetal de estudio *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) fue recolectada entre los meses Julio – Agosto del 2016, del Distrito de Usquil, provincia de Otuzco, Departamento de La libertad (entre los 7°48'58.9" Sur y los 78°25'02.7" Oeste y tiene un altitud de 3018 m.s.n.m.) de una misma población se recolecto hojas maduras de la parte aérea de la planta con el fin de preservar la especie.

**Selección:**

Luego que se realizó la recolección de la muestra se procedió a hacer la selección de la materia vegetal considerando que las hojas no estén deterioradas, estén maduras y también separar si hubiera mezcla con otra especie.

**Identificación Taxonómica:**

La especie vegetal seleccionada, se llevó al Herbario *Truxillensis* de la Universidad Nacional de Trujillo para su correspondiente identificación Taxonómica; obteniéndose la siguiente taxonomía: división Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, orden Piperales, familia Piperaceae, genero Piper, especie *Piper acutifolium* Ruiz & Pav, variedad *acutifolium*.

**Lavado:**

La especie fue lavada con abundante agua potable, luego de haber realizado esto, se procedió a su desinfección usando hipoclorito de sodio al 1% <sup>(23,24)</sup>.

**Secado a Sombra:**

Para el secado a sombra se comenzó pesando 50g de muestra, las cuales posteriormente fueron colocadas en bolsas de papel Kraft, en un lugar fresco y seco. Se hicieron determinaciones de pérdidas de peso cada 48 h. hasta obtener pesos constantes <sup>(23,24)</sup>.

**Secado a la Estufa:**

Al igual que en el secado a sombra se pesaron 50g de muestra, luego se colocaron en bolsas de papel Kraft y se llevó a la estufa a una temperatura de 40° C. Se realizó determinaciones de peso cada 24 h. hasta obtener pesos constante <sup>(23,24)</sup>.

**Pulverización:**

Luego de haber realizado los pasos del secado se procedió a la pulverización de la droga, la cual se realizó en un molino hasta obtener el tamaño de partícula adecuado. Una vez realizado este procedimiento se procedió al almacenamiento en frascos ámbar en un lugar sin humedad y luz directa, hasta que sea utilizado <sup>(23,24)</sup>.

**Caracterización macromorfológica:**

Este procedimiento se realizó a simple vista. Consistió en describir la morfología de las hojas, considerando su forma (Según peciolo: Peciolada, Según ápice:, Acuminada, Según base: Cordada, Según bordes: Entera, Según lamina o contorno: Elíptica, Según venación: Palminervia), superficie (Pubescente), consistencia (Membranosa). Luego de haber realizado este procedimiento se promedió el peso (2.1 g  $\pm$ 0.38g), largo (20.2 cm  $\pm$ 1.65 cm) y ancho (Ancho: 6.6 cm  $\pm$ 0.63 cm) de las hojas <sup>(23,24)</sup>.

### **Caracterización Organoléptica:**

Se tomó en cuenta el olor (Sui Generis), sabor (Sui Generis), color (verde), condición (fresca, seca y completa), y textura (membranosa) de la especie vegetal<sup>(23,24)</sup>.

### **Determinación de la Humedad Residual:**

Se empleó el método por desecación utilizando 2g de droga triturada, esta droga fue transferida a una cápsula previamente tarada y desecada a 105° C durante tres horas. La cápsula fue colocada en una desecadora donde se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego de esto fue pesada, para luego ser colocada nuevamente en la estufa durante una hora; se realizó hasta obtener un peso constante. Se procedió a hacer los cálculos respectivos<sup>(23,24)</sup>.

### **Determinación de Sustancias Solubles:**

Se basó en la extracción de las sustancias solubles en etanol 70° y en agua; se utilizó 2g de muestra para cada ensayo, previamente pulverizada y tamizada, esta fue transferida a un matraz Erlenmeyer de 250mL; se añadió 100mL del menstuo, se tapó y se agito durante 6h, luego se dejó en reposo hasta el día siguiente y se agito por 30min; luego de esto se volvió a dejar reposar media hora, para luego ser filtrado<sup>(23,24)</sup>.

Se tomó una alícuota de 20mL la cual se colocó en una cápsula previamente tarada. Se procedió a evaporar sobre baño de agua, luego se deseco en estufa a 105° C durante 3h, se dejó enfriar y se pesó. Se procedió a hacer los cálculos respectivos<sup>(23,24)</sup>.

### **Determinación de Cenizas Totales:**

Se usó 2g de droga triturada. La cual fue sometida a calor aumentando la temperatura hasta que se carbonice y posteriormente fue incinerada en un horno mufla a una temperatura de 750° C durante 2h y media. Se dejó enfriar en una desecadora y se pesó, se hizo este proceso hasta que exista una diferencia de más de 0,5mg. Se buscó una masa constante con intervalos de calentamiento de 30min. Se procedió a hacer los cálculos respectivos <sup>(23,24)</sup>.

### **Determinación de Cenizas Solubles en agua:**

Lo que se obtuvo del paso anterior se le añadió de 15 a 20 mL de agua en un crisol, luego de esto se tapó y se somete a calor suave durante aproximadamente 5 min. La solución fue filtrada con un papel filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo regreso al crisol inicial, luego se realizó una carbonización en una cocina, posteriormente este residuo se incinero en un horno mufla de 700-750 ° C durante 2h. pasado las 2 horas se colocó en un desecador hasta que alcance una temperatura ambiente, para poder ser pesada. Este procedimiento fue repetido hasta alcanzar un peso constante. Se procedió a hacer los cálculos respectivos <sup>(23,24)</sup>.

### **Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico:**

A lo que se obtuvo de las cenizas totales se le añadió 2-3 mL de ácido clorhídrico al 10% en un crisol el cual fue tapado con una luna de reloj, este se sometió a un baño de agua hirviendo durante 10 min. Lo que quedo en la luna de reloj fue lavada con 5mL de agua caliente y fue vertido al contenido del crisol. La solución resultante fue filtrada a través de papel filtro libre de cenizas, se lavó el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico p.a.; al cual se le añadió una o dos gotas de solución de nitrato de plata a 0,1mol/L, hasta que no

muestra presencia de cloruros. El filtro con el residuo fue desecado en una estufa a 100°C-105 °C, el cual regreso al crisol inicial y se procedió a su incineración en un horno mufla de 700°C-750 °C durante 2 h. Luego de haber realizado esto se colocó en un desecador hasta que alcance una temperatura ambiente para poder realizar el correspondiente pesado. Se repitió el proceso hasta alcanzar un peso que sea constante. Se procedió a hacer los cálculos respectivos<sup>(23,24)</sup>.

#### **Determinación de materias extrañas:**

Para la realización de este procedimiento se pesó 1g de droga, el cual se fue colocado en una placa Petri y con el estereoscopio se procedió a separar la materia extraña manualmente. Una vez separado el material se procedió a pesar y se determinó su porcentaje en base al peso de la muestra ensayo<sup>(23,24)</sup>.

Los límites para las materias extrañas, se establecen en las monografías o especificaciones de calidad de cada droga en particular <sup>(23,24)</sup>.

El porciento de materia extraña ( $\square\square$ ) se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$\square\square = \frac{\square}{\square} \square 100(\%)$$

Dónde:

M= Masa inicial de la muestra de ensayo (g).

m= Masa de materia extraña (g).

100= Factor matemático para los cálculos.

#### **3.5. Plan de análisis de datos:**

Se realizó el análisis de datos en el programa de Microsoft Office Excel 2016.

### 3.6. Matriz de consistencia:

Título de la Investigación	Formulación del Problema	Objetivos	Tipo de Investigación Diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y Escala de medición	Plan de Análisis
ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS Y FITOQUÍMICAS DE LAS HOJAS DE <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (MATICO).	¿Qué características fisicoquímicas y fitoquímicas presenta las hojas de <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (Matico)?	<b>Objetivo General:</b> Identificar las características fisicoquímicas y fitoquímicas de la hoja de <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (Matico). <b>Objetivos Específicos:</b> Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto clorofórmico, etanólico y acuoso de la hoja de <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (Matico)	Fue de tipo descriptivo y de un nivel de enfoque cualitativo. Diseño de una casilla: Estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas.	Características fisicoquímicas	Se determinó - Materias extrañas - Humedad Residual - Cenizas Totales - Sustancias solubles en Alcohol y H <sub>2</sub> O - Secado a sombra y estufa	Porcentaje (%) Cuantitativa de Razón	Office Excel 2016.
				Características fitoquímicas.	Reacciones de color, precipitación u otros.		

### **3.7. Principios éticos:**

La recolección de la especie vegetal de estudio fue de la parte aérea de la planta con el fin de preservar la especie.

#### IV. RESULTADOS

##### 4.1. Resultados:

**Tabla 01.** Características fisicoquímicas de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

<b>Parámetros</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Humedad Residual	6.49
Cenizas Totales	12.78
Materias extrañas	8.3
Sustancias Solubles en alcohol	28.10
Sustancias Solubles en agua	23.42
Cenizas solubles en HCl	0.40
Cenizas solubles en agua	3.99
Secado a sombra	55.8 ± 0.14
Secado a estufa	66.2 ±0.43

**Tabla 02.** Metabolitos secundarios en el extracto clorofórmico de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

<b>Metabolitos</b>	<b>Ensayos</b>	<b>Identificación</b>	<b>Intensidad</b>
Alcaloides	Dragendorff	+	+++
Alcaloides	Mayer	-	-
Alcaloides	Wagner	-	-
Lactosas	Baljet	-	-
Triterpenos	Lieberman – Burchard	+	+++
Cumarinas	Hidroxamato Férrico	-	-

**Leyenda**

**Intensidad**

+ Baja

++ Moderada

+++ Alta

**Identificación**

+ Positivo

– Negativo

**Tabla 03.** Metabolitos secundarios en el extracto etanólico de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

<b>Metabolitos</b>	<b>Ensayos</b>	<b>Identificación</b>	<b>Intensidad</b>
Aminoácidos y Aminoácidos	Ninhidrina	+	+++
Lactosas	Baljet	-	-
Quinonas	Borntrager	+	+
Triterpenos	Lieberman – Burchard	+	+++
Azúcares reductores	Fehling	+	+++
Catequinas	Catequinas (Carbonato de Na)	-	-
Cumarinas	Hidroxamato Férrico	-	-
Flavonoides	Shinoda	+	+++
Glicósidos Cardiotónicos	Kedde	-	-
Resinas	Resinas	+	+++
Saponinas	Espuma	-	-
Taninos	Tricloruro Férrico	+	+++

**Leyenda**

**Intensidad**

+ Baja

++ Moderada

+++ Alta

**Identificación**

+ Positivo

– Negativo

**Tabla 04.** Metabolitos secundarios en el extracto acuoso de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

<b>Metabolitos</b>	<b>Ensayos</b>	<b>Identificación</b>	<b>Intensidad</b>
Alcaloides	Dragendorff	+	+++
Alcaloides	Mayer	-	-
Alcaloides	Wagner	-	-
Azúcares reductores	Fehling	+	+++
Flavonoides	Shinoda	+	+++
Polisacáridos	Mucílagos	-	-
Saponinas	Espuma	-	-
Taninos	Tricloruro Férrico	+	+++

**Leyenda**

<b>Intensidad</b>	<b>Identificación</b>
+ Baja	+ Positivo
++ Moderada	- Negativo
+++ Alta	

**Tabla 05.** Metabolitos secundarios del extracto clorofórmico, etanólico y acuoso de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

Metabolitos	Extractos		
	Clorofórmico	Etanólico	Acuoso
Alcaloides	+		+
Aminoácidos y Aminas		+	
Azúcares reductores		+	+
Flavonoides		+	+
Quinonas		+	
Resinas		+	
Taninos		+	+
Triterpenos	+	+	

**Leyenda**

+ Positivo

– Negativo

## 4.2. Análisis de resultados:

En la tabla 1, se muestra la humedad de la especie vegetal, la cual es importante saber para su conservación, ya que permite evitar que surjan reacciones de hidrólisis de sus componentes fitoquímicos, así como también evitar una proliferación de microorganismos. El porcentaje de humedad residual encontrado en la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) fue de 6.5%.

En el contenido de cenizas totales nos indica el cuidado que se ha tenido en la manipulación de la droga debido a que para determinarlas la muestra es quemada a una temperatura de 450°C para evitar la pérdida de algunos metabolitos.

Las materias extrañas contenidas en la droga vegetal son posiblemente excremento de animales o insectos, los cuales son desechados en la selección de la muestra; en el caso de esta droga tuvo un porcentaje de 8.3% debido a que es un árbol acogedor de aves e insectos.

El análisis de sustancias solubles en agua y alcohol sirve para dirigir el posterior análisis fitoquímico, puesto que al encontrar un porcentaje mayor en las sustancias solubles en alcohol, indicará una mayor presencia de metabolitos de polaridad intermedia.

Para cenizas hidrosolubles se disgregan mejor con la adición de alcohol y una nueva calcinación, el resultado encontrado es de 3.98% lo que indica que la mayor parte de metabolitos serán identificados en el extracto etanólico; mientras que el resultado de cenizas solubles en HCl es de 0.40% debido a que la muestra es de la parte aérea de la planta.

En cuando al secado ya sea en estufa o en sombra, se observa que existe una variación de pérdida de peso entre el secado a sombra 55.8% ( $\pm 0.14\%$ ) y el secado a estufa 66.2% ( $\pm 0.43\%$ ), estas dos formas son válidas a pesar de encontrar una diferenciada variación, pero para una buena conservación de la droga se recomienda el secado a estufa, ya que se mantiene un control estable de la temperatura, también es necesario tener en cuenta el mejor método de secado para evitar la proliferación de microorganismos en la muestra. El tiempo de secado fue de 4 días, esto debido a que a partir del tercer día se comenzó a tener pesos constantes.

En la tabla 2, se muestran los metabolitos secundarios ubicados por el Tamizaje Fitoquímico del extracto clorofórmico, en el cual se obtuvo que la especie vegetal presenta los siguientes metabolitos: alcaloides y triterpenos, la razón por la cual solo se presentan estos componentes es debido a que el cloroformo extrae en su extracto a aquellas sustancias que tengan una polaridad parecidas con él; en este caso serían las que son afines a los lípidos;

Al comparar con el estudio de Tie L. et al se observa que a pesar de utilizar otros solventes (en este caso usaron petróleo) debido a la afinidad polar este género vegetal también demostró contar con la presencia de terpenos, a pesar de ser una especie vegetal distinta (*Piper boehmeriifolium*)<sup>(17)</sup>.

En la tabla 3, se muestran los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico), en lo cual se aprecia que la droga vegetal cuenta con un número mayor de metabolitos en comparación con el extracto clorofórmico, esto debido a que su polaridad se

encuentra en medio de los otros 2 solventes (cloroformo y agua); los metabolitos presentes fueron: aminoácidos, aminos, quinonas, triterpenos, azúcares reductores, flavonoides, resinas y taninos.

En la tabla 4, nos muestra los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso en el cual solo encontramos alcaloides, azúcares reductores, flavonoides y taninos, como se dijo anteriormente es debido a que estas sustancias tienen más afinidad polar con este extracto.

En la tabla 5, se observa cuáles son los metabolitos secundarios del extracto clorofórmico, etanólico y acuoso de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) evidenciando la presencia de: alcaloides, aminoácidos, aminos, quinonas, triterpenos, azúcares reductores, flavonoides, resinas y taninos. Estos resultados al ser contrastados con el estudio de la autora Alessandra G. et al, evidencia que existe una diferencia en cuanto a la existencia de metabolitos secundarios, puesto que su especie vegetal recolectada de Ecuador, muestra la presencia de cumarinas, difiriendo de la especie vegetal Peruana, ya que esta no cuenta en su anatomía con la presencia de cumarinas, pero si con la de alcaloides, quinonas y aminoácidos.

Comparando con los antecedentes, el estudio realizado por Jennifer B. et al a la especie vegetal del mismo género; encontró la presencia de amidas y flavonoides. Este resultado se diferencia con la especie vegetal estudiada *Piper acutifolium* Ruiz & Pav, puesto que observamos que a pesar de ser del mismo género no evidencia la presencia de amidas, pero si flavonoides<sup>(16)</sup>.

La presencia o ausencia de ciertos metabolitos secundarios en una parte anatómica de una especie vegetal pueden ser diferentes con la misma especie vegetal recolectada en otros lugares del mundo o dentro del mismo país, ya que las condiciones atmosféricas, terrestres y demás, influyen en la proliferación de estos fitoconstituyentes.

Estos datos servirán para realizar investigaciones más avanzadas de la especie vegetal o incluso poder llevarlas al ámbito aplicativo buscando efectos terapéuticos, puesto que ahora se conoce con cual extracto se encontrará algún metabolito en específico que se esté buscando además que se tendrá certeza de que metabolitos secundarios tiene esta especie vegetal sembrada en nuestro país.

## V. CONCLUSIONES

### 5.1. Conclusiones:

- Se logró identificar las características fisicoquímicas y fitoquímicas de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).
- Usando métodos de observación macromorfológicas se logró identificar las características fisicoquímicas de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav.
- Se identificó los metabolitos secundarios en el extracto clorofórmico de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico), los cuales fueron alcaloides y triterpenos.
- Se logró identificar los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico), siendo: aminoácidos, aminos, quinonas, triterpenos, azúcares reductores, flavonoides, resinas y taninos.
- Se identificó los metabolitos secundarios en el extracto acuoso de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) en el cual encontramos alcaloides, azúcares reductores, flavonoides y taninos.
- Realizando el tamizaje fitoquímico, se logró identificar los metabolitos secundarios del extracto clorofórmico, etanólico y acuoso de la hoja de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico) por lo cual se determinó que los fitoconstituyentes presentes son: alcaloides, aminoácidos, aminos, quinonas, triterpenos, azúcares reductores, flavonoides, resinas y taninos.

## 5.2. Recomendaciones:

- Se recomienda proseguir con investigaciones acerca de las hojas de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico), en diferentes campos ya sea analizando cuantitativamente los metabolitos.
- Realizar estudios no solo de las hojas de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico), sino también de diferentes partes de su estructura anatómica, para comprobar en qué parte se encuentran mayor concentraciones de metabolitos.
- Utilizar la presente investigación como base de futuras investigaciones científicas, con el fin de encontrar nuevos resultados que apoyen al estudio de la especie vegetal *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Marinoff, M. Las plantas medicinales desde la Biblia a la actualidad. [monografía en internet]. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste; 2006; (5): [citada 24 Abril 2016]. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-053.pdf>
- 2.- Santibáñez R, Cabrera J. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas. 1 ed. Lima. Instituto Nacional de Salud. 2013.
- 3.- Narciso C, Sobrados D. Características Farmacognósticas e Histoquímicas de las hojas de *Myrcianthes discolor*. [Tesis para optar el título de: químico farmacéutico]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2013.
- 4.- Briz J, María J, Moris G, Flores U. Estudio de la Viabilidad Comercial de Plantas Medicinales en Zonas Rurales Altas del Valle del Mantaro (Perú). [Monografía en internet]. Madrid: Red Universitaria de investigación en cooperación.; 2017 [citada 07 Mayo 2016]. Disponible en: <http://www.reduniversitaria.es/investigacion/PLANTAS%20MEDICINALES%20PER%DA.pdf>
- 5.- Palacios M. Texto Digital de Farmacognosia y Fitoquímica. Chimbote: ULADECH; 2013.
- 6.- Cortez V, Macedo J. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. Rev Biomed. 2014; (15):123- 136
- 7.- Universidad Nacional del Callao. Definición y Características de los Metabolitos Secundarios. Lima: Universidad Nacional del Callao; 2013.
- 8.- Palacios M. Texto Digital de Farmacognosia y Fitoquímica Metabolitos Primarios y Secundarios. Chimbote: ULADECH; 2013.

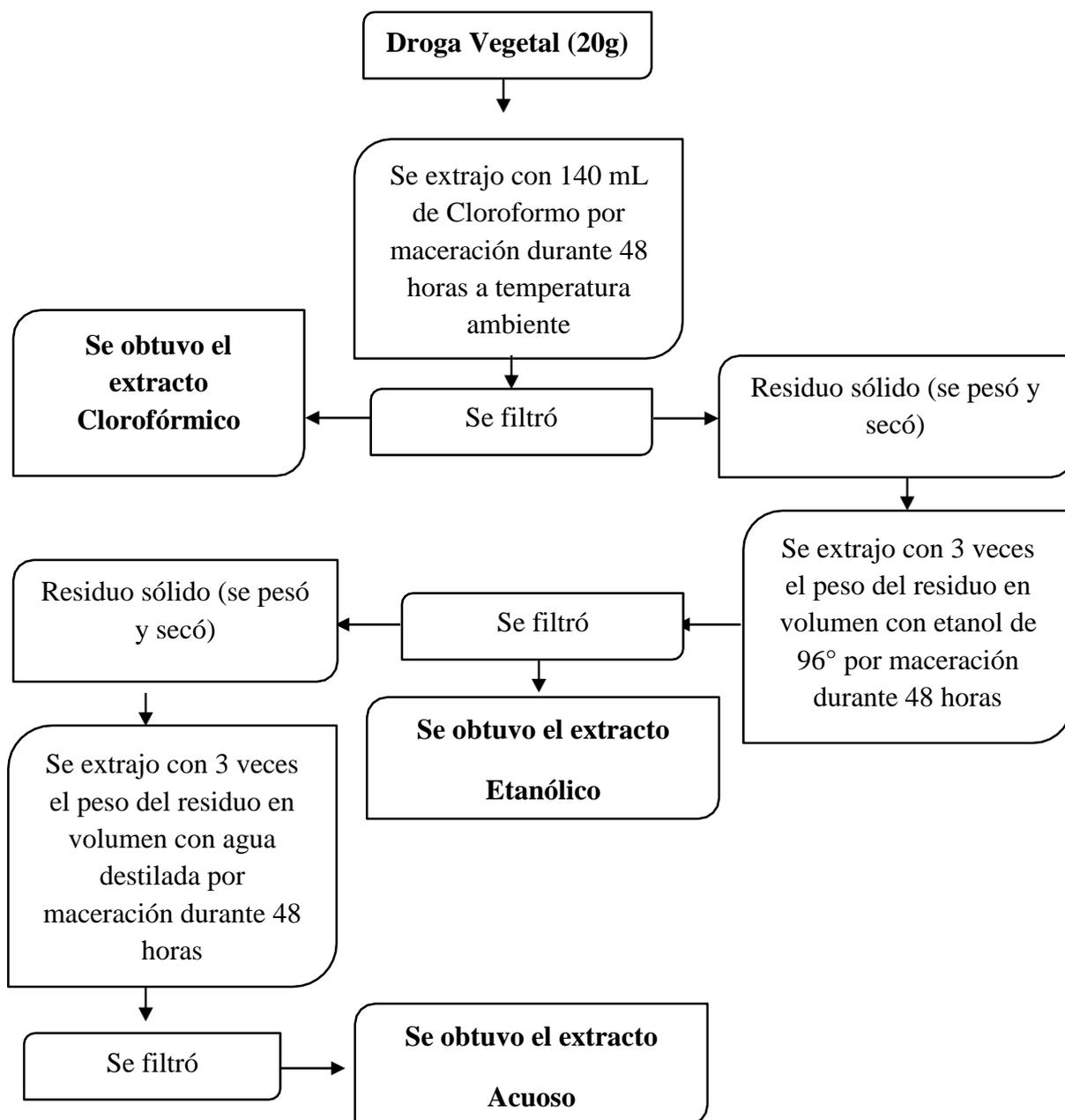
- 9.- Pereira S, Vega D, Almeida M, Morales G. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la *Trichilia hirta* L. Rev. Química Viva. 2016; (3): 192-193.
- 10.- Shimabukuro D, Torres E. Estudio Técnico de la Extracción de Aceite Esencial de *Piper aduncum*. “Matico” y diseño de planta piloto. [Tesis para optar el título de Ingeniero Químico]. Lima: Universidad Nacional de Ingeniería; 2013.
- 11.- Pautrat L, Ángulo I, Germana C, Uchima C, Castillo R, Candela M. Manual de identificación de especies peruanas de flora y fauna silvestre susceptibles al comercio ilegal. RedPEIA. 2013. 3(70): 8
- 12.- Villavivencio O. Manual de Fitoterapia. Perú. Sociedad Peruana de medicina Biológica. 2014.
- 13.- Alessandra G, Gianni S, Damiano R, Guglielmo P, Mariavittoria M, Elisa A, Massimiliano T, Maria E, Renato B. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. ScienceDirect. [Revista on-line]. 2009 Ene [citado 05 Jul 2018]; 27(1):39-48. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S13826689080012>
- X
- 14.- Campos A. Evaluación biológica, aislamiento y determinación estructural del principio activo larvicida de *Piper acutifolium* R&P. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2013.
- 15.- Ayasta J, Aguirre R, Rodríguez E. La Oscurana (Cajamarca), un bosque relicto más para conservar en las vertientes occidentales andinas del norte del Perú. Rev. Perú biol. [Revista en línea]. Set 2015. [citado 31 May 2016];12(2)8:289-296. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v12n2/v12n2a12.pdf>

- 16.- Jennifer B, Juan D. <https://doi.org/10.1016/j.sci.2016.12.011>:Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*. ScienceDirect. [Revista on-line]. 2016 Dic [citado 05 Jul 2018]; 26 (6):767-779. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X16300564>
- 17.- Tie L, Qian L, Xin-Min Z, Gen-Qian L, Bo X, Wen-Hui X. Chemical constituents from *Piper boehmeriifolium* (Miq.) Wall. ex C. DC ScienceDirect. [Revista on-line]. 2017 Dic [citado 05 Jul 2018]; 75(1):27-30. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197817301217>
- 18.- Mejia K, Rengifo E. Plantas Medicinales de uso popular en La Amazonia Peruana. 2 ed. Lima. Enrique Uldemolins. 2013.
- 19.- Horna L, López C. Estudio Farmacognóstico y Cuantificación de Flavonoides Totales de las Hojas de *Sambucus peruviana* H.B.K. (Sauco) Proveniente de la Ciudad de Huamachuco. [Tesis para optar el grado académico de bachiller en farmacia y bioquímica]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2012.
- 20.- Carrión A, García C. “Preparación de Extractos Vegetales: Determinación de Eficiencia de Metódica”. [Tesis para optar el título de Bioquímica y Farmacéutica]. Cuenca: Universidad de Cuenca; 2013.
- 21.- Vidaurre M, Milagros F, Querevalú G, Laura M, De Los Rios E, Ruiz S. Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. Rev. Med. Vallejana. 2013. 4 (2): 121-122.
- 22.- Alejandro M. ESTEROLES. Rev. UdeA. 2013. 40(6):10-11.
- 23.- Enríquez A, Prieto E, De Los Ríos E, Ruiz S. Estudio farmacognóstico y fitoquímico del rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe “Jengibre” de la ciudad de Chanchamayo - Región Junín. Perú. Rev. Med. Vallejana. 2008; 5(1): 52-54.

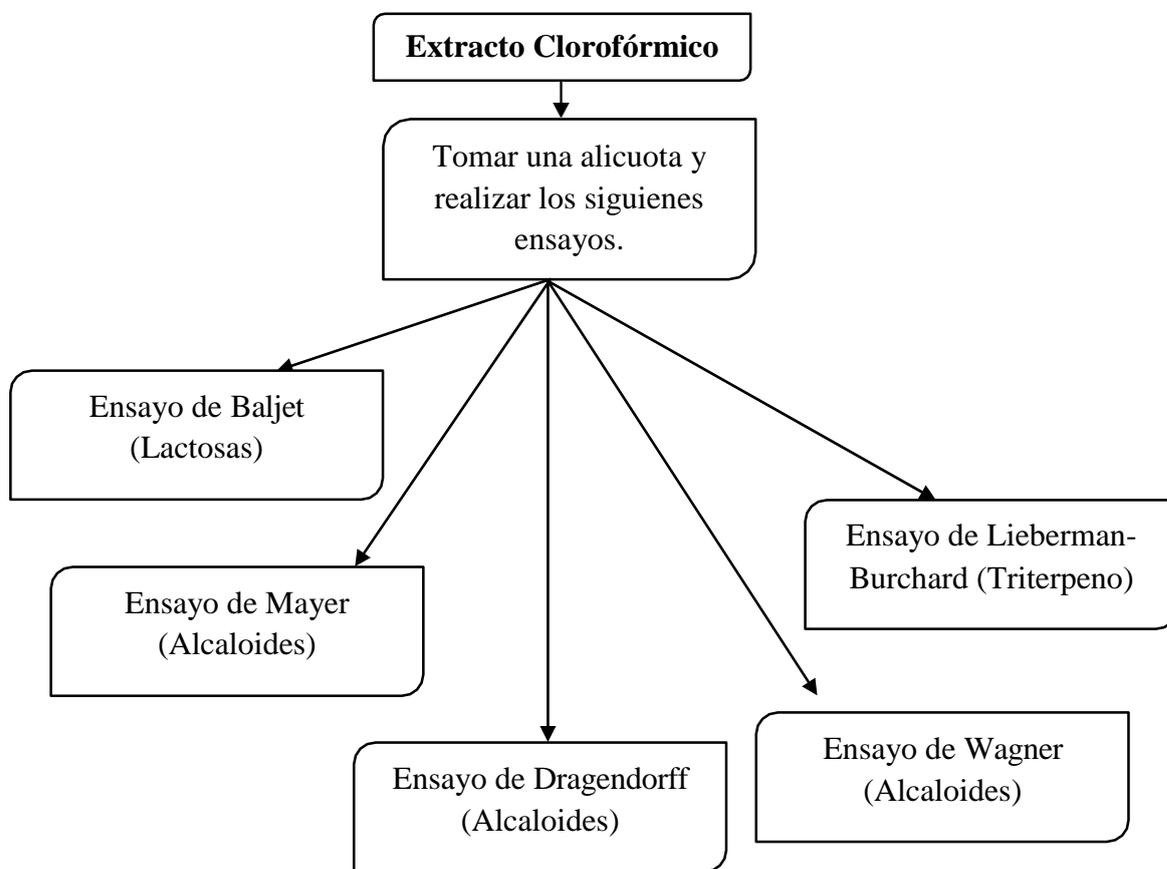
24.- Cuéllar A, Miranda M. Farmacognosia de los Productos Naturales. 2ed.Ed Félix Valera. La Habana 2012. 147-172.

## ANEXOS

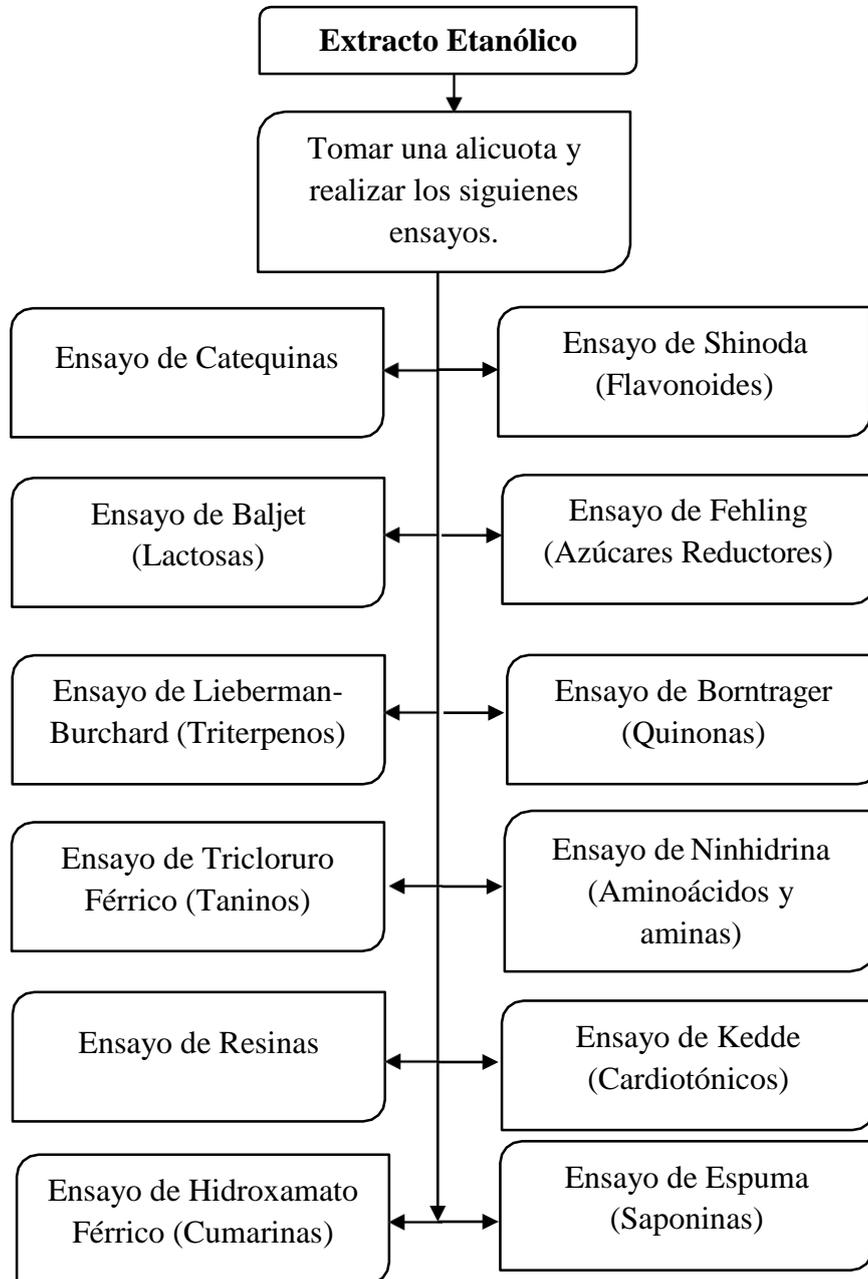
Anexo 01: Extracción sucesiva del material vegetal para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico



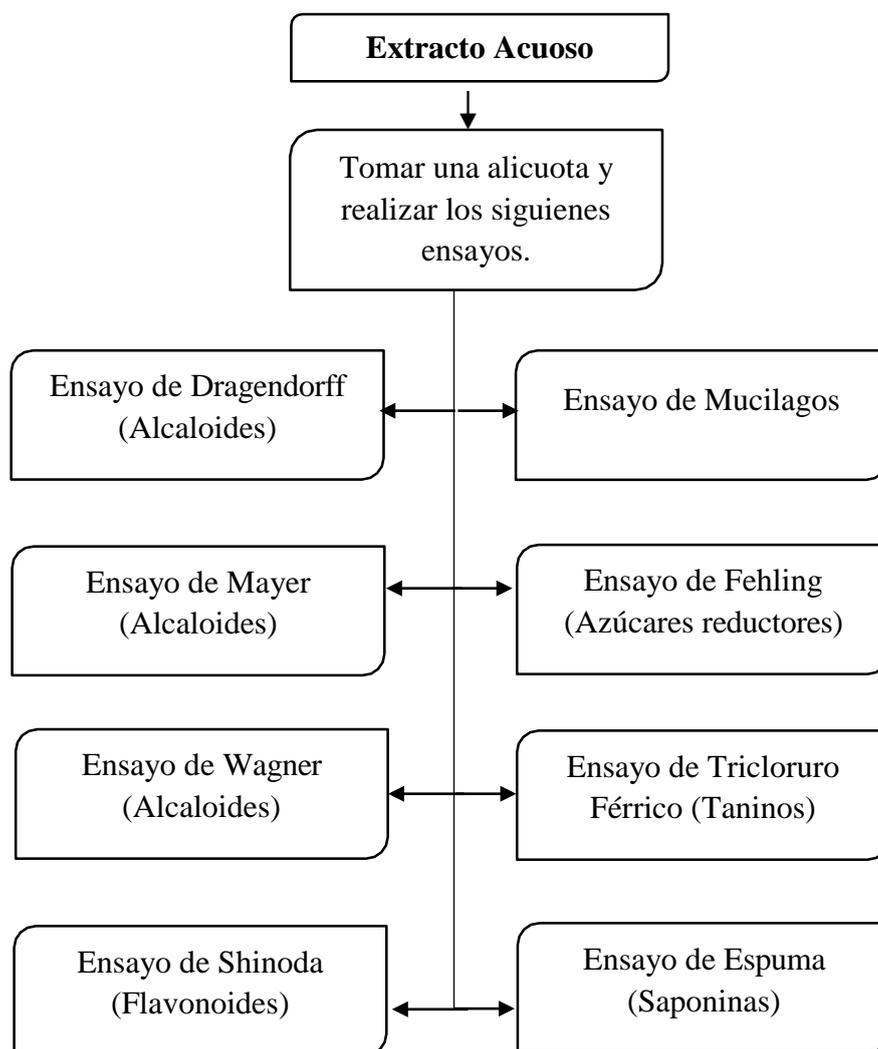
Anexo 02: Esquema de las reacciones a realizar en el extracto clorofórmico



Anexo 03: Esquema de las reacciones a realizar en el extracto etanólico



Anexo 04: Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso



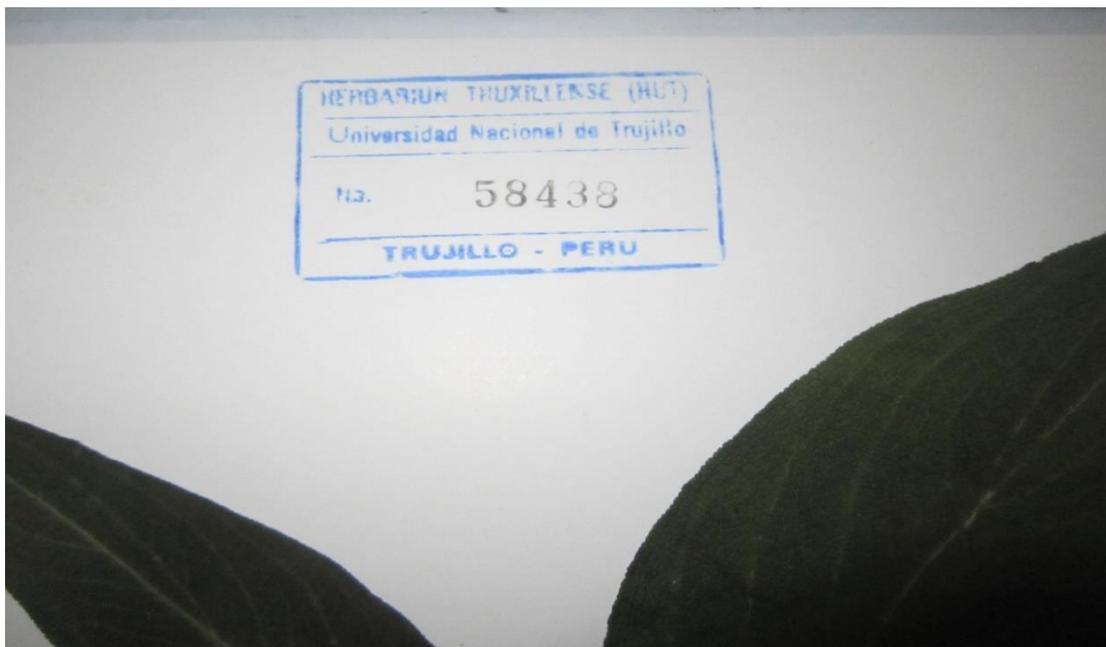
Anexo 05: Ubicación en el mapa de la ciudad de Usquil, lugar de recolección de la muestra



Anexo 06: Identificación taxonómica dada por el Herbario *Truxillensis*



Anexo 07: Número de registro en el Herbario *Truxillensis*



Anexo 08: Bolsa hecha a base de papel Kraff que en su interior contiene 50g de muestra, para ser secada a sombra.



Anexo 09: Bolsa hecha a base de papel Kraff que en su interior contiene 50g de muestra, colocada en estufa a 40° C



Anexo 10: Muestra pulverizada



Anexo 11: Balón sometido a reflujo por 30 minutos dentro de un baño María.



Anexo 12: Filtrado para obtener el extracto clorofórmico



Anexo 13: Extractos que serán sometidos al análisis fitoquímico junto con los reactivos a utilizar para el tamizaje fitoquímico.



Anexo 14: Tubo del ensayo con extracto clorofórmico, prueba de Lieberman – Burchard que identifica Triterpenos, en el cual se observa un resultado positivo.



Anexo 15: Tubo del ensayo con extracto etanólico, prueba de Borntrager que identifica Quinonas, en el cual se observa un resultado positivo.



Anexo 16: Tubo del ensayo con extracto etanólico, prueba de Lieberman – Burchard que identifica Triterpenos, en el cual se observa un resultado positivo.



Anexo 17: Cálculos para encontrar promedio del largo ancho y peso de las hojas de *Piper acutifolium* Ruiz & Pav. (Matico)

<i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. (Matico)		
Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)
Promedio		
20,225	6,586	2,084

a. Determinación de la desviación estándar

Largo:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{N}}{N}}$$

$$\sigma = \sqrt{2,7528}$$

$$\sigma = 1,6591$$

Ancho:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{N}}{N}}$$

$$\sigma = \sqrt{0,4002}$$

$$\sigma = 0,6326$$

Peso:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{N}}{N}}$$

$$\sigma = \sqrt{0,1471}$$

$$\sigma = 0,3835$$

b. Determinación de coeficiente de variación

Largo:

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100$$

$$CV = \frac{1.6591}{20.225} \times 100$$

$$CV = 8.2036\%$$

Ancho:

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100$$

$$CV = \frac{0.6326}{6.586} \times 100$$

$$CV = 9.6054\%$$

Peso:

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100$$

$$CV = \frac{0,3835}{2.084} \times 100$$

$$CV = 18.4065\%$$

Anexo 18: Cálculos para la determinación de materias extrañas

$$\square_{\square} = \frac{\square}{\square} \square 100(\%)$$

Dónde:

M= Masa inicial de la muestra de ensayo (g).

m= Masa de materia extraña (g).

100= Factor matemático para los cálculos.

$$\square_{\square} = \frac{8.3}{100} \square 100(\%)$$

$$\square_{\square} = \square. \square\%$$

Anexo 19: Cálculos para la determinación de humedad residual

$$Hg = \frac{(\square 2 - \square 1)}{\square 2 - \square} \square 100(\%)$$

Dónde:

Hg= Pérdida de peso por desecación (%).

M2= Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g).

M1= Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g).

M= Masa de la cápsula vacía (g).

100= Factor matemático para los cálculos.

Muestra A:

M= 31.1390 g

M1=33.0142 g

M2=33.1419 g

$$Hg = \frac{(33.1419 - 33.0142)}{33.1419 - 31.1390} \square 100(\%)$$

$$Hg = \frac{0.1277}{2.0029} \square 100(\%)$$

$$Hg = 6.3757\%$$

Muestra B:

M=22.3341

M1=24.2025

M2=24.3349

$$Hg = \frac{(24.3349 - 24.2025)}{24.3349 - 22.3341} \square 100(\%)$$

$$Hg = \frac{0.1324}{2.0008} \square 100(\%)$$

$$Hg = 6.6173\%$$

Promedio

$$X Hg = \frac{(6.3757 + 6.6173)}{2}$$

$$X Hg = 6.4965\%$$

## Anexo 20: Cálculos para determinación de sustancias solubles

$$S_s = \frac{\square \square 500 \square 100}{\square (100 - \square)}$$

Dónde:

S<sub>s</sub>= Sustancias solubles (%).

H= Humedad de la muestra (%).

R= Residuo de la muestra (g).

M= Masa de la muestra (g).

### a. Determinación de sustancias Alcohol-solubles

$$S_s = \frac{\square \square 500 \square 100}{\square (100 - \square)}$$

H= 6.4965%

R= 0.1051 g.

M= 2 g.

$$S_s = \frac{0.1051 \square 500 \square 100}{2(100 - 6.4965)}$$

S<sub>s</sub> = 28.1005%

b. Determinación de sustancias hidrosolubles

$$H = 6.4965\%$$

$$R = 0.0876 \text{ g.}$$

$$M = 2 \text{ g.}$$

$$S_s = \frac{0.0876 \times 500 \times 100}{2(100 - 6.4965)}$$

$$S_s = 23.4215\%$$

Anexo 21: Cálculos para la determinación de cenizas totales:

$$C = \frac{M2 - M}{M1 - M} \square 100(\%)$$

Donde:

C= Porcentaje de cenizas totales en base hidratada (%).

M= Masa del crisol vacío (g).

M1= Masa del crisol con la porción de ensayo (g).

M2= Masa del crisol con la ceniza (g).

Muestra A:

M= 21.6501

M1= 23.6541

M2= 21.9131

$$C = \frac{21.9131 - 21.6501}{23.6541 - 21.6501} \square 100(\%)$$

$$C = 13.1237\%$$

Muestra B:

M= 22.6593

M1= 24.6662

M2= 22.9205

$$C = \frac{22.9205 - 22.6593}{24.6662 - 22.6593} \square 100(\%)$$

$$C = 13.0150\%$$

Muestra C:

M= 17.8474

M1= 19.8495

M2= 18.1017

$$C = \frac{18.1017 - 17.8474}{19.8495 - 17.8474} \times 100(\%)$$

$$C = 12.7016 \%$$

Muestra D:

$$M = 22.1581$$

$$M1 = 24.1666$$

$$M2 = 22.4038$$

$$C = \frac{22.4038 - 22.1581}{24.1666 - 22.1581} \square 100(\%)$$

$$C = 12.2330\%$$

Promedio

$$X C = \frac{13.1237 + 13.0150 + 12.7016 + 12.2330}{4}$$

$$X C = 12.7683\%$$

Anexo 22: Cálculos para determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

$$B = \frac{M2 - M}{M1 - M} \square 100(\%)$$

Donde:

B= Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada (%).

M= Masa del crisol vacío (g)

M1= Masa del crisol con la porción de ensayo (g).

M2= Masa del crisol con la ceniza (g).

Muestra B:

M= 22.6593

M1= 24.6662

M2= 22.6671

$$B = \frac{22.6671 - 22.6593}{24.6662 - 22.6593} \square 100(\%)$$

$$B = 0.3886\%$$

Muestra D:

M= 22.1581

M1= 24.1666

M2= 22.1665

$$B = \frac{22.1665 - 22.1581}{24.1666 - 22.1581} \square 100(\%)$$

$$C = 0.4182\%$$

$$X B = \frac{0.3886 + 0.4182}{2}$$

$$X B = 0.4034\%$$

Anexo 23: Cálculos para determinación de cenizas solubles en agua.

$$C1 = \frac{M2 - Ma}{M1 - M} \times 100(\%)$$

Donde:

C1= Porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada (%).

M= Masa del crisol vacío (g)

M1= Masa del crisol con la porción de ensayo (g).

M2= Masa del crisol con las cenizas totales (g).

Ma= Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua

Muestra A:

M= 21.6501

M1= 23.6541

M2= 21.7874

Ma= 21.7092

$$C1 = \frac{21.7874 - 21.7092}{23.6541 - 21.6501} \times 100(\%)$$

$$C = 3.9021\%$$

Muestra D:

M= 22.1581

M1= 24.1666

M2= 22.2708

Ma= 22.1898

$$C1 = \frac{22.2708 - 22.1898}{24.1666 - 22.1581} \times 100(\%)$$

$$C = 4.0776\%$$

$$X C1 = \frac{3.9021 + 4.0776}{2}$$

$$X B = 3.9898\%$$

## Anexo 24: Cálculos para el análisis del secado

Estufa:

Número de muestra	Peso final
1	16.9
2	16.85
3	16.9
4	16.9

$$M1 = 50g - 16.9 = 33.1 = 66.2 \%$$

$$M2 = 50g - 16.85 = 33.15 = 66.3 \%$$

$$M3 = 50g - 16.7 = 33.3 = 66.6 \%$$

$$M4 = 50g - 16.9 = 33.1 = 66.2 \%$$

$$\text{Promedio} = 66.22 \%$$

Desviación Estándar:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{N}}{N}}$$

$$\sigma = 0,0433$$

Coefficiente de variación: 0.0006%

## Sombra

Número de muestra	Peso final
1	22.1
2	22.2
3	22.0
4	22.1

$$M1 = 50g - 22.1 = 27.9 = 55.8\%$$

$$M2 = 50g - 22.2 = 27.8 = 55.6\%$$

$$M3 = 50g - 22.0 = 28 = 56\%$$

$$M4 = 50g - 22.1 = 27.9 = 55.8\%$$

$$\text{Promedio} = 55.8\%$$

Desviación Estándar:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{N}}{N}}$$

$$\sigma = 0,1414$$

Coefficiente de variación: 0.002%