



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación de la actividad antioxidante e hipoglucémica *in vitro* de extractos de Marco (*Ambrosia arborescens*), Quishuar (*Buddleja incana*), Cedrón (*Aloysia citrodora*) y Capulí (*Prunus serotina*).

Trabajo de Titulación, Modalidad: Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingenieros Biotecnólogos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autores: Erick Bladimir Cunalata Lascano

Jonathan David Jara Irigoya

Tutor: PhD. Irvin Ricardo Tubón Usca

Ambato – Ecuador

Septiembre – 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ph.D. Irvin Ricardo Tubón Usca

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Titulación y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 24 de julio de 2023

.....
Ph.D. Irvin Ricardo Tubón Usca

C.I. 060425035-7

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

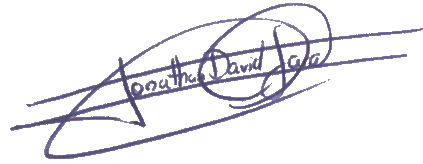
Nosotros, Erick Bladimir Cunalata Lascano y Jonathan David Jara Irigoya, manifestamos que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingenieros Biotecnólogos, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



.....
Erick Bladimir Cunalata Lascano

C.I. 1850158690

AUTOR



.....
Jonathan David Jara Irigoya

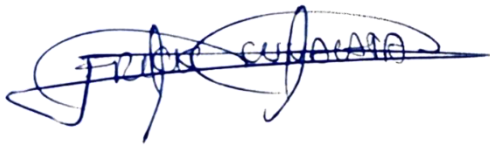
C.I. 1804652939

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizamos a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

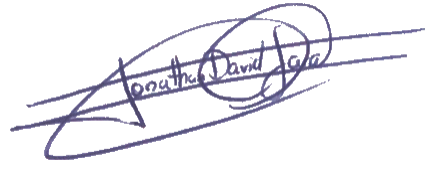
Cedemos los Derechos en línea patrimoniales de nuestro Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



.....
Erick Bladimir Cunalata Lascano

C.I. 1850158690

AUTOR



.....
Jonathan David Jara Irigoya

C.I. 1804652939

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Por constancia firman:

.....

Presidente del tribunal

.....

Ing. M.Sc. Ruth Narcisa Pérez Salinas

C.I. 1802726628

.....

Ing. M.Sc. Daniel Alfonso Cabrera Valle

C.I. 1802560595

Ambato, 23 de agosto de 2023

DEDICATORIA

*A toda la comunidad científica del mundo
Al niño que alguna vez soñó con hacer ciencia
A quienes siempre buscan aprender algo nuevo
A todo aquel que se atreve a soñar*

Erick Bladimir Cunalata Lascano

DEDICATORIA

A mis padres Angel y Susana que me brindaron su apoyo frente a la adversidad

A mi hermano Alexander que me ha aconsejado en todo momento

A Cara y Elizabeth que me acompañaron en situaciones difíciles

Jonathan David Jara Irigoya

AGRADECIMIENTO

A Dios, por haberme permitido culminar esta gran etapa de mi vida y por ser siempre mi soporte en los más difíciles momentos.

A mis padres Maribel y Bladimir por el apoyo incondicional durante toda la carrera universitaria, por todo el esfuerzo realizado para que pudiese alcanzar este logro y por ser siempre un ejemplo de superación y perseverancia.

A mis tíos Byron y María de los cuales he aprendido muchas cosas y que, aunque no lo sepan fueron una pieza clave en mi vida para impulsarme a cumplir esta meta. También a mi prima Mishelle que estuvo pendiente durante la ejecución de mi proyecto y siempre ha estado para escucharme, darme algún consejo y sacarme una sonrisa.

A mi tutor Ph.D Irvin Tubón por compartir sus conocimientos y haberme guiado durante el desarrollo de mi proyecto. Estaré infinitamente agradecido por las oportunidades que me ha brindado para aprender cosas nuevas.

A la Universidad Técnica de Ambato por abrirme sus puertas y permitir que me desarrolle como un profesional en el área de la investigación.

A mi mejor amiga Vivian Gavilanes con la cual he vivido un montón de aventuras y que ha sido de las personas más increíbles que he podido conocer durante la carrera y en la vida. Ya todos aquellos que tienen un lugar en mi corazón, que más que amigos los considero mis hermanos/as porque fueron parte de lo que fue como mi segundo hogar. Gracias por todo: Ali, Daya, Jona, Andre, Vivi , Washito, Mishu, Nía, Geo y Vic. Que la vida se encargue de nunca separarnos y si nos separa que se encargue de volvernos a reunir.*

Erick Bladimir Cunalata Lascano

AGRADECIMIENTO

En mi primer lugar, quiero agradecer a mi familia por ayudarme a cumplir esta meta y a guiarme por el camino correcto.

Mi mayor agradecimiento va dirigido para mi madre, quien ha sabido escuchar mis problemas y me ha impulsado a seguir adelante; a mi padre quien me ha ayudado y aconsejado cuando lo he necesitado; y a mi hermano, quien me ha brindado el tiempo que necesitaba.

A mi tutor, Dr. Irvin Tubón por proporcionarme su guía y experiencia durante la realización de este proyecto.

A la Ing. María Eugenia García por ayudarme con sus consejos en esta travesía.

A la Universidad Técnica de Ambato y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por permitirme conocer a personas maravillosas y brindarme experiencias gratas que me ayudaron a crecer a nivel personal.

Jonathan David Jara Irigoya

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
AGRADECIMIENTO.....	ix
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	x
ÍNDICE GENERAL DE FIGURAS	xii
ÍNDICE GENERAL DE TABLAS.....	xiv
RESUMEN EJECUTIVO	xv
ABSTRACT.....	xvi
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1 Antecedentes investigativos	1
1.1.1 <i>Diabetes mellitus</i>	1
1.1.2 La diabetes y el estrés oxidativo	6
1.1.3 Tratamientos alternativos para la diabetes	8
1.1.4 Plantas medicinales del Ecuador.....	10
1.1.5 Componentes bioactivos de plantas	15
1.2 Objetivos.....	22
1.2.1 Objetivo General	22
1.2.2 Objetivos Específicos.....	22
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA	23
2.1 Materiales	23
2.1.1 Equipos de laboratorio	23
2.1.2 Reactivos	23
2.1.3 Material fungible.....	24
2.2 Métodos	25
2.2.1 Obtención de los extractos.....	25
2.2.2 Determinación de metabolitos secundarios	27
2.2.3 Análisis de la capacidad antioxidante.....	31
2.2.4 Evaluación de la capacidad hipoglucémica	32

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
3.1 Análisis y discusión de los resultados	34
3.1.1 Rendimiento de extractos vegetales.....	34
3.1.2 Determinación de metabolitos secundarios	37
3.1.3 Análisis de la capacidad antioxidante.....	47
3.1.4 Evaluación de la capacidad hipoglucémica	53
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	62
4.1 Conclusiones.....	62
4.2 Recomendaciones	63
MATERIAL DE REFERENCIA	64
ANEXOS.....	81

ÍNDICE GENERAL DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general de la producción de insulina en las células pancreáticas.	2
Figura 2. Fisiología de la insulina.....	4
Figura 3. Representación de la reacción de Maillard.....	8
Figura 4. Marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill).....	10
Figura 5. Quishuar (<i>Buddleja incana</i> Ruiz & Pav).....	12
Figura 6. Cedrón (<i>Aloysia citrodora</i> Paláu).....	13
Figura 7. Capulí (<i>Prunus serotina</i> Ehrh)	14
Figura 8. Reacción producida entre DPPH y un antioxidante.	17
Figura 9. Estructura del almidón.....	19
Figura 10. Estructura terciaria en 3D de la enzima α -amilasa.	20
Figura 11. Mecanismo de reacción en el método DNS.....	21
Figura 12. Actividad antioxidante presente en los extractos etanolicos de las cuatro especies vegetales.....	52
Figura 13. Actividad antioxidante presente en los extractos acuosos de las cuatro especies vegetales.....	52
Figura 14. Actividad antioxidante presente en los dos tipos de extracto de las cuatro especies vegetales.....	53
Figura 15. Inhibición enzimática de α -amilasa por los extractos de <i>A. arborescens</i> .	55
Figura 16. Inhibición enzimática de α -amilasa por los extractos de <i>B. incana</i>	56
Figura 17. Inhibición enzimática de α -amilasa por los extractos de <i>A. citrodora</i>	57
Figura 18. Inhibición enzimática de α -amilasa por los extractos de <i>P. serotina</i>	58
Figura 19. Inhibición enzimática de α -amilasa de los extractos etanólicos de las cuatro especies vegetales.....	60
Figura 20. Inhibición enzimática de α -amilasa de los extractos acuosos de las cuatro especies vegetales.....	60
Figura 21. Inhibición enzimática de α -amilasa en los dos tipos de extracto de las cuatro especies vegetales.....	61
Figura 22. A: Desinfección B: Secado C: Triturado del material vegetal.	82
Figura 23. A: Pesaje del material vegetal B: Maceración. C: Infusión.....	82
Figura 24. Eliminación de solvente mediante evaporación al vacío.....	82

Figura 25. Resultado de la extracción A: Maceración B: Infusión.	83
Figura 26. Pruebas de tamizaje fitoquímico.....	83
Figura 27. Curva de calibración de Ácido Gálico.....	83
Figura 28. Determinación de fenoles totales.....	84
Figura 29. Curva de calibración de Quercetina.....	84
Figura 30. Determinación de flavonoides totales.....	84
Figura 31. Uso de espectrofotómetro para lectura en placa.	85
Figura 32. Preparación del reactivo DPPH	85
Figura 33. Curva calibración Trolox.....	86
Figura 34. Placa de 96 pocillos método DPPH.	86
Figura 35. Placa de 96 pocillos método DNS.	86

ÍNDICE GENERAL DE TABLAS

Tabla 1. Lugares de recolección.....	25
Tabla 2. Rendimiento de extracción de las especies vegetales.	34
Tabla 3. Determinación cualitativa de los metabolitos presentes en el extracto de las hojas de <i>A. arborescens</i>	38
Tabla 4. Determinación cualitativa de los metabolitos presentes en el extracto de las hojas de <i>B. incana</i>	39
Tabla 5. Determinación cualitativa de los metabolitos presentes en el extracto de las hojas de <i>A. citrodora</i>	40
Tabla 6. Determinación cualitativa de los metabolitos presentes en el extracto de las hojas de <i>P. serotina</i>	42
Tabla 7. Cuantificación del contenido de fenoles totales de las distintas especies vegetales.	43
Tabla 8. Cuantificación del contenido de flavonoides totales de las distintas especies vegetales.	45
Tabla 9. Capacidad antioxidante de las distintas especies vegetales.	48
Tabla 10. Contenido equivalente de Trolox de las distintas especies vegetales.	48

RESUMEN EJECUTIVO

La *Diabetes mellitus* es una enfermedad crónica que afecta a gran parte de la población mundial. El principal síntoma de la diabetes es el desarrollo de niveles elevados de glucosa en sangre (hiperglucemia) que desencadena un desequilibrio en el organismo y produce patologías secundarias asociadas al estrés oxidativo generado por este desorden metabólico. En dicho contexto, este proyecto de investigación fue planteado con el objetivo de evaluar la capacidad antioxidante e hipoglucemiante de las hojas de Marco, Quishuar, Cedrón y Capulí.

Se inició con la obtención de los extractos mediante maceración e infusión obteniendo rendimientos en un rango de 10.3 y 18.30 por ciento, posteriormente se realizó la caracterización del perfil fitoquímico de cada una de las especies vegetales a través de pruebas cualitativas para determinar la presencia o ausencia de metabolitos como alcaloides, cumarinas, carbohidratos, fenoles, triterpenos, flavonoides, saponinas, resinas, aminoácidos libres y antocianinas. Así mismo se realizó una determinación cuantitativa del contenido de fenoles y flavonoides totales. La capacidad antioxidante fue evaluada mediante el ensayo de captación de radicales libres utilizando el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) obteniéndose porcentajes de inhibición del radical libre de entre 65.40 y 84.61 por ciento. Finalmente, se realizó el ensayo de inhibición de alfa-amilasa para determinar la capacidad hipoglucemiante, donde los porcentajes de inhibición oscilaron entre 19.35 y 48.95 por ciento.

Los resultados de este estudio pueden servir como base para futuras investigaciones enfocadas en el desarrollo de formulaciones farmacéuticas alternativas basadas en plantas medicinales que puedan servir como tratamiento para la hiperglucemia producida por la diabetes.

Palabras clave: Diabetes mellitus, tamizaje fitoquímico, metabolitos, antioxidantes, hipoglucemiante, alfa-amilasa.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic disease that affects a long part of the world population. The main symptom of diabetes is high blood glucose levels (hyperglycemia), which triggers an imbalance in the body, producing secondary pathologies associated with oxidative stress generated by this metabolic disorder. This research project aimed to evaluate the antioxidant and hypoglycemic capacity of Marco, Quishuar, Cedrón and Capulí leaves.

The extracts were obtained through maceration and infusion, yielding between 10.3 and 18.30 percent. The phytochemical profile of each plant species was characterized through qualitative tests to determine the presence or absence of metabolites such as, alkaloids, coumarins, carbohydrates, phenols, triterpenes, flavonoids, saponins, resins, free amino acids, and antocyanins. Quantitative determinations of total phenols and flavonoid content were also conducted. The antioxidant capacity was evaluated using the free radical scavenging assay with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH), resulting in the percentages of free radical inhibition between 65.40 and 84.61 percent. Furthermore, the alpha-amylase inhibition assay was performed to determine hypoglycemic capacity, with inhibition percentages ranging from 19.3 to 48.95 percent.

This study results can serve as basis for future research focused on using medicinal plants to create pharmaceutical formulations as an alternative treatment for hyperglycemia caused by diabetes.

Key words: Diabetes mellitus, phytochemical screening, metabolites, antioxidants, hypoglycemic, alpha-amylase.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

1.1.1 *Diabetes mellitus*

La *Diabetes mellitus* (DM) es un desorden metabólico caracterizado por presentar niveles elevados de glucosa en sangre. En los últimos años el número de personas con DM se ha incrementado constantemente, en el año 2019 se reportó un 9.3% (463 millones) de personas con DM en el mundo y se espera que para el año 2045 esta cifra ascienda a 10.9% (700 millones) (**FID, 2019**).

Existen 2 principales subtipos de la diabetes, *Diabetes mellitus* tipo 1 (DMT1) y *Diabetes mellitus* tipo 2 (DMT2), siendo la DM tipo 1 la que abarca el 5% de casos, mientras que la DM tipo 2 comprende el 95% (Liu et al., 2021). En ambos tipos, la hiperglucemia es un síntoma persistente producido por una deficiencia de insulina, esta condición permite el desarrollo de patologías secundarias como daño ocular, deficiencia renal, fallo en el sistema nervioso y así mismo se relaciona con problemas cardiovasculares, estos últimos debido a que la DMT2 está asociada generalmente a la obesidad (**Genuth et al., 2018**).

La insulina es una hormona segregada por el páncreas cuya función principal es regular la concentración de glucosa en sangre de manera que ingrese y se almacene correctamente en el músculo y tejido adiposo (**Figura 1**). Además, es responsable de la homeostasis de distintos procesos metabólicos en las células manteniendo un equilibrio dentro de las mismas (**Olivares & Arellano, 2008**).

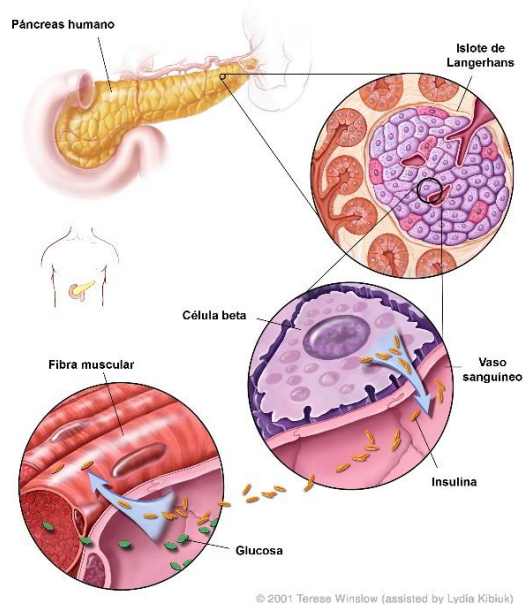


Figura 1. Esquema general de la producción de insulina en las células pancreáticas.

Fuente: (EuroStemCell, 2016)

1.1.2.1 Diabetes mellitus tipo 1 (DMT1)

En la DMT1 se desencadena un proceso autoinmune en el cual se destruyen las células β de los islotes pancreáticos y como resultado de ello se produce una deficiencia de insulina (Warshauer et al., 2020). Este tipo de diabetes se presenta con mayor frecuencia en niños y jóvenes, sin embargo, pueden existir adultos que poseen DMT1 y han sido diagnosticados erróneamente con DMT2 (Lucier & Weinstock, 2023). La DMT1 es de tipo genético, pero existen diversos factores ambientales que incrementan la susceptibilidad del individuo a la enfermedad; estos factores suelen ser exposición a virus, microbiota del huésped, dieta, entre otros (Los & Wilt, 2023).

La progresión de la enfermedad ha sido clasificada en 3 etapas. En la primera etapa se desarrolla el mecanismo autoinmune con niveles de glucosa normales sin la presencia de síntomas, mientras que en la segunda etapa se origina un deterioro de la funcionalidad de las células β que produce dificultades en el manejo de la glucosa en sangre, sin embargo, no se han identifican síntomas de diagnóstico clínico.

Finalmente, en la etapa 3 se generan los síntomas asociados como pérdida de peso, fatiga, poliuria, cetoacidosis diabética (CAD) entre otros (**Insel et al., 2015**).

1.1.2.2 Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2)

En la DMT2 se desarrolla una disminución en la respuesta a la insulina por parte de las células (resistencia a la insulina). Para mantener el equilibrio de glucosa en sangre, se produce una sobreproducción de insulina, causando que las células musculares y del tejido adiposo no respondan de igual manera a los niveles normales de glucosa, provocando que la producción de insulina empiece a disminuir debido a un deterioro en las células β del páncreas ocasionando hiperglucemia (**Goyal & Jialal, 2023**).

Cuando existe un desequilibrio de los niveles de glucosa en sangre, las células β se encuentran en constante exposición a concentraciones elevadas de glucosa, esta condición produce un desequilibrio entre la síntesis de enzimas antioxidantes y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) generando daño oxidativo y resistencia a la insulina (**Leyva et al., 2020**).

La resistencia a la insulina esta generalmente relacionada con el sobrepeso y el sedentarismo prevaleciendo principalmente en adultos de más de 45 años, sin embargo, se ha vuelto muy común en personas de mediana edad, adolescentes y niños debido a las condiciones de vida (**Sampath Kumar et al., 2019**).

1.1.2.3 Tratamientos de la diabetes

1.1.2.3.1 Terapia farmacológica

Las terapias farmacológicas se enfocan principalmente en el control glucémico para mejorar la calidad de vida del paciente, para lo cual existen diversos tratamientos, entre ellos se encuentran: tratamiento de insulina y administración de fármacos como

biguanidas, sulfonilureas, tiazolidinedionas, glipitinas, análogos del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), entre otros (Tan et al., 2019).

El tratamiento con insulina se basa en su administración exógena por vía subcutánea (Figura 2) para la reducción de la hiperglucemia postprandial (Warshauer et al., 2020). En pacientes con DMT1 la terapia es permanente y es necesario establecer el nivel fisiológico de insulina del paciente, además se consideran las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas del tipo de insulina administrado (Haak et al., 2019).

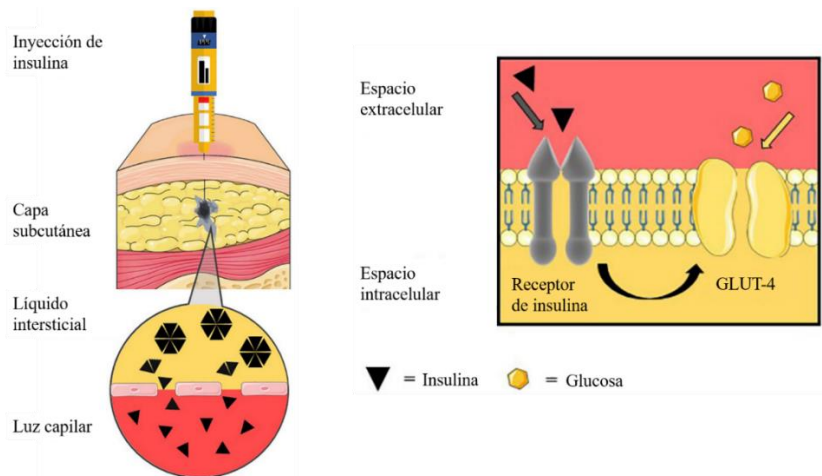


Figura 2. Fisiología de la insulina.

La dosis es liberada en la capa subcutánea, los oligómeros de insulina se fraccionan en monómeros que atraviesan el endotelio capilar hasta llegar a la circulación sanguínea. Una vez en la sangre, circula hasta unirse a un receptor de insulina facilitando la captación de la glucosa en la célula (Pitt et al., 2020).

Por otro lado, las biguanidas son un grupo de fármacos que contrarrestan la hiperglucemia disminuyendo la gluconeogénesis e incrementando la respuesta del cuerpo a la insulina endógena. Además, disminuye la absorción de glucosa en el intestino y estimulan la glucólisis (Padhi et al., 2020).

Así mismo, el tratamiento con sulfonilureas es aplicado principalmente para la DMT2 ya que en la DMT1 no tiene efecto, estos agentes, reducen los niveles de glucosa en sangre como resultado de la promoción de la liberación de insulina (**Emdin et al., 2017**). El tratamiento con este tipo de fármacos no suele usarse comúnmente ya que puede producir hipoglucemia en pacientes con padecimientos secundarios y de avanzada edad (**Pfeiffer & Klein, 2014**).

Existe además el tratamiento con tiazolidinedionas que están enfocadas directamente en reducir la resistencia a la insulina. Este grupo de fármacos incrementa la sensibilidad a la hormona a través de la activación del receptor activado por proliferador de peroxisoma (PPAR γ), lo que produce una regulación de los ácidos grasos, reducción de los triglicéridos hepáticos y disminución de la actividad de la grasa visceral (**Lebovitz, 2019**).

Además, las gliptinas, son inhibidores de la dipeptidilpeptidasa-4 (DPP4), este grupo de fármacos se encargan de inhibir la enzima dipeptidil-peptidasa-4. Al inhibir esta enzima se retrasa la inactivación de incretinas (péptido similar al glucagón 1 (GLP-1)) y polipéptido inhibidor gástrico (GIP) que son hormonas encargadas de estimular la síntesis de insulina en las células β pancreáticas. Se ha reportado que estos fármacos tienen bajo riesgo de inducir hipoglucemia y no presentan problemas en el control del peso (**Tan et al., 2019**).

Los diferentes tratamientos se suministran generalmente de manera oral y son utilizados para la DMT2 a excepción del tratamiento con insulina que se administra vía subcutánea o intravenosa. Sin embargo, la mayoría de los tratamientos producen ciertos efectos secundarios en pacientes, por lo que, el enfoque clínico gira en torno a encontrar alternativas óptimas para los pacientes.

1.1.2.3.2. Terapia no farmacológica

Además de la terapia médica, el estado de salud de los pacientes con DMT1 y DMT2 puede mejorar siguiendo un régimen de dieta e implementando ejercicio a su rutina diaria. En pacientes con DM el ejercicio aeróbico puede mejorar la sensibilidad a la glucosa y el metabolismo lipídico. Además, permite el aumento de transportadores de glucosa, mejorando los receptores de insulina en las células del músculo esquelético y adipocitos (**Lu & Zhao, 2020**). Así mismo, mejora la función de las células β del páncreas y disminuye el riesgo de accidentes cardiovasculares (**Kanaley et al., 2022**).

Además, un buen manejo de la dieta en personas que padecen de la enfermedad es crucial para el control de glucemia, aplicando dietas bajas en carbohidratos o la denominada dieta cetogénica como posibles alternativas para disminuir el riesgo de padecer DMT2 y mejorar la calidad de vida de personas que poseen la enfermedad. Sin embargo, no existe evidencia que este tipo de dietas puedan prevenir el apareamiento de la DMT1 o ayudar en su tratamiento (**Bolla et al., 2019**).

1.1.2 La diabetes y el estrés oxidativo

Los niveles anormales de glucosa en el organismo provocado por la DM generan un desequilibrio metabólico responsable de una sobreproducción de ROS, las cuales inducen daño celular en la estructura de los tejidos (macromoléculas, lípidos y proteínas) y aumentan las complicaciones que abarca esta enfermedad (**Bhatti et al., 2017**). El medio oxidativo que se presenta en el organismo reduce la sensibilidad a la insulina de los pacientes, produciendo resistencia a esta hormona y alterando la tolerancia a la glucosa presente a nivel celular (**Rains & Jain, 2011**).

En condiciones normales, los islotes pancreáticos de las células β sintetizan insulina y la almacenan para utilizarse en función de los niveles de glucosa en sangre (**Leahy et al., 2010**), por lo que, al existir un aumento de estos niveles se necesita constantemente liberar una mayor cantidad de esta hormona, provocando el deterioro

de las células β pancreáticas y el desarrollo posterior de resistencia a la insulina debido al estrés oxidativo presente en tejidos adiposos, músculos esqueléticos y dificultando la absorción glucosídica (**Kahn et al., 2014**).

1.1.2.1 Patologías asociadas a los radicales libres

Los antioxidantes son el principal mecanismo de defensa utilizado para neutralizar a las ROS, pero en condición de hiperglucemia, el organismo no es capaz de contrarrestarlos en su totalidad debido a su alta generación, produciéndose una mayor interacción entre ROS, macromoléculas y proteínas junto con moléculas de glucosa, lo cual genera que estos compuestos reaccionen mediante oxidación y glicación que origina peroxidación lipídica, y productos de glicación avanzada por medio de la reacción de Maillard, los cuales provocan daños en el ADN y alteraciones estructurales en las proteínas (**Roberts & Sindhu, 2009**).

La reacción de Maillard (**Figura 3**) se produce mediante la interacción entre el grupo amino libre de una proteína, lípido o ácido nucleico y el grupo carbonilo de un azúcar reductor, generándose una base de Schiff el cual es un compuesto orgánico que se caracteriza por presentar un doble enlace carbono-nitrógeno y una baja estabilidad (actúan como intermediarios para la formación de otras moléculas), por lo que, continúan reaccionando y generan productos de Amadori con un grupo carbonilo altamente reactivo, el cual pasa por reacciones de oxidación, deshidratación y degradación, hasta la formación de productos de glicación avanzada (AGEs) (**C. Carvajal, 2015; Centeno & Ulloa, 2021**).

Se han asociado a la presencia de AGEs en pacientes diabéticos con el aumento en el riesgo de padecer fisiopatologías relacionadas con este desequilibrio metabólico, como hipertensión, arteriosclerosis, cáncer, retinopatía, nefropatía, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares (**Bhatti et al., 2022**).

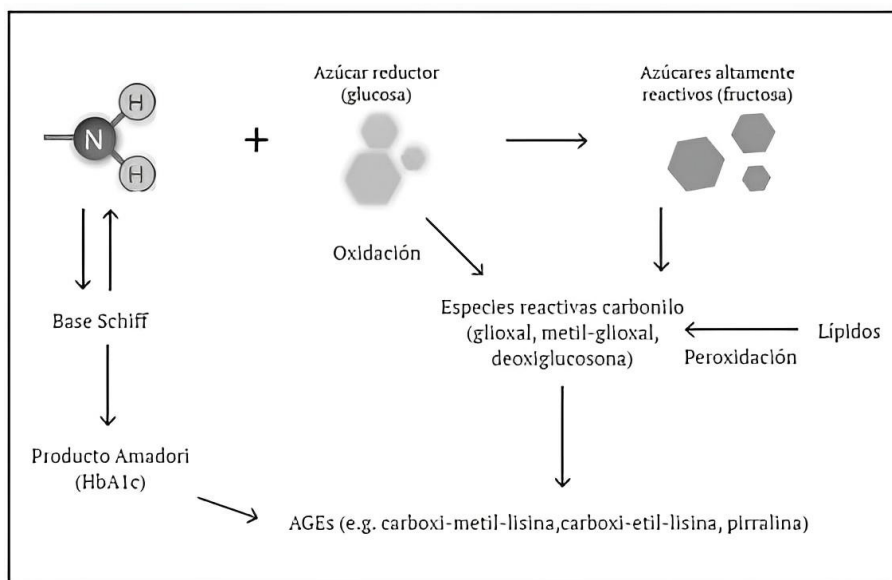


Figura 3. Representación de la reacción de Maillard.

Se produce una reacción entre el grupo amino de biomoléculas y azúcares reductores, los cuales generan como resultado productos de glicación avanzada (AGEs).

Fuente: (Centeno & Ulloa, 2021)

1.1.3 Tratamientos alternativos para la diabetes

1.1.3.1 Medicina tradicional

Las plantas han sido utilizadas desde la antigüedad en la medicina herbaria como un recurso terapéutico tradicional para el tratamiento de distintas enfermedades que afectan a la salud debido a su alta disponibilidad, costo reducido y experiencia ancestral en el tiempo, siendo una alternativa destacada frente a las formulaciones farmacéuticas actuales (Pascual et al., 2014).

Esta práctica se realiza con mayor frecuencia en zonas rurales debido a las complicaciones existentes para acceder a la medicina moderna, siendo una de las principales maneras que han establecido para llevar una vida saludable, por lo que, es necesario comprobar la efectividad de las distintas plantas nativas utilizadas en la medicina herbaria y se determine con certeza el mecanismo de acción y el tipo de

enfermedades que puedan ser tratadas con las mismas, para evitar reacciones desfavorables al consumirlas (**Heisler et al., 2015**).

La medicina tradicional puede ser considerada como una opción relevante para el tratamiento y prevención de la diabetes, evitando los efectos secundarios producidos por los medicamentos sintéticos elaborados en la industria farmacéutica (López, 2008); siendo capaz de emplearse en conjunto con otros fármacos para reducir las dosis administradas y aumentar el efecto terapéutico o a su vez como un reemplazo completo de los mismos a causa de su actividad biológica y a las interacciones producidas en el metabolismo (**Gallegos, 2016**).

1.1.3.2 Fitoterapia

En los últimos años, la fitoterapia ha llegado a ser un recurso terapéutico de alto valor debido a que los metabolitos bioactivos que se producen presentan propiedades antioxidantes, cardioprotectoras, antiinflamatorias, antibacterianas y hepatoprotectoras (**Gallego, 2016**). Los compuestos bioactivos de interés farmacológico en las plantas medicinales son generados durante su metabolismo y abarcan una gran variedad de estructuras químicas complejas como polisacáridos, alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, polifenoles, terpenos, carotenoides y saponinas (**S. Rashid et al., 2021**).

Los metabolitos secundarios y polisacáridos bioactivos presentan una elevada actividad antioxidante e hipoglucemiante, siendo capaces de reducir el daño por radicales libres del organismo, reducir los niveles de glucosa en sangre y disminuir la resistencia a la insulina en las células (**Xie et al., 2016**). Los principales mecanismos utilizados por las plantas para el tratamiento de la diabetes se basan en el mejoramiento la flora intestinal, inhibición de la actividad enzimática de α -amilasa y α -glucosidasa, regulación de los niveles de insulina y reducción de estrés oxidativo (**Ji et al., 2023**).

1.1.4 Plantas medicinales del Ecuador

1.1.4.1 *Ambrosia arborescens* Mill

La descripción taxonómica del Marco (*Ambrosia arborescens*) según **Loja & Morocho (2018)**, se describe a continuación.

Dominio: Eucaryota
Reino: Plantae
Filo: Magnoliophyta
Clase: Dicotyledoneae
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Genero: *Ambrosia*
Especie: *arborescens*

A. arborescens es un arbusto ramoso aromático perteneciente a la familia Asteraceae con un tamaño comprendido entre 0.5 y 3 m, sus hojas son pecioladas y presentan una coloración verde blanquecina la cual se encuentra naturalmente distribuida en las regiones andinas de América del Sur. Crece en suelos arenosos y ligeramente alcalinos con una alta capacidad de adaptación frente a las condiciones de estrés ambientales (**Cano, 2014**).



Figura 4. Marco (*Ambrosia arborescens* Mill)

Esta especie es utilizada en la medicina tradicional mediante infusión para el tratamiento de reumatismos, cólicos, diabetes, migrañas, antiparasitario debido a la presencia de compuestos bioactivos que han sido aislados en esta especie, los cuales abarcan monoterpenos, sesquiterpenos, alcaloides, taninos y flavonoides los cuales le otorgan propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, citotóxicas y antimicrobianas (Kovács et al., 2022).

1.1.4.2 *Buddleja incana* Ruiz & Pav.

La descripción taxonómica del Quishuar (*Buddleja incana*) según Benenaula (2007), se describe a continuación.

Dominio: Eucaryota
Reino: Plantae
Filo: Magnoliophyta
Clase: Magnolopsida
Orden: Lamiales
Familia: Scrophulariaceae
Genero: *Buddleja*
Especie: *incana*

B. incana es un árbol perteneciente a la familia Scrophulariaceae con un tamaño entre 5 y 7 m, el cual se encuentra distribuido naturalmente en quebradas y orillas de ríos junto a matorrales y se localiza en zonas andinas de Ecuador, Bolivia, Perú y Colombia. Presenta una corteza robusta agrietada y sus hojas poseen una coloración verdosa oscura en el haz con el borde ligeramente dentado (Enriquez et al., 2020).



Figura 5. *Quishuar* (*Buddleja incana* Ruiz & Pav).

Sus hojas son utilizadas tradicionalmente en infusión para el tratamiento de enfermedades hepáticas, afecciones bronquiales, gastrointestinales y reumáticas, debido a que se han encontrado principalmente glicósidos, flavonoides y saponinas, los cuales le otorgan sus propiedades cicatrizantes, antiinflamatorias, antibacterianas, antimicóticas, antirreumático y regeneradoras de la piel (**Gutiérrez et al., 2020**).

1.1.4.3 *Aloysia citrodora* Palaú

La descripción taxonómica del Cedrón (*Aloysia citrodora*) según **Iglesias & Pichucho (2021)**, se describe a continuación.

Dominio: Eucaryota
Reino: Plantae
Filo: Magnoliophyta
Clase: Dicotyledoneae
Orden: Lamiales
Familia: Verbenaceae
Género: *Aloysia*
Especie: *citrodora*

A. citrodora Palaú es un arbusto perenne con una altura de hasta 3 m. perteneciente a la familia Verbenaceae. Es originaria de Centro y Sudamérica, crece generalmente en climas cálidos y los principales usos son medicinales y ornamentales (**Yungán, 2019**). Los tallos son leñosos, estriados y alargados. Sus hojas son de color verde claro y son rugosas con el borde ligeramente dentado. Las flores se encuentran al borde de los tallos, son pequeñas y de color blanco azulado (**Iglesias & Pichucho, 2021**).



Figura 6. *Cedrón (Aloysia citrodora Palaú).*

En *A. citrodora* se han podido aislar algunos flavonoides a partir de extractos utilizando distintos solventes. Así mismo se ha podido identificar terpenos, monoterpenos, sesquiterpenos y algunos alcoholes grasos en el aceite esencial, de estos compuestos se ha podido determinar su actividad antimicrobiana, antioxidante, citoprotectora, neuroprotectora, antiinflamatoria y su capacidad de mejorar el metabolismo (**Bahramsoltani et al., 2018**). Entre sus aplicaciones, se destaca el uso del aceite esencial para el tratamiento de complicaciones respiratorias y enfermedades gastrointestinales. Además, es utilizada como relajante por sus propiedades sedantes en tratamientos contra el insomnio (**Rudas, 2017**).

1.1.4.4 *Prunus serotina* Ehrh

La descripción taxonómica del Capulí (*Prunus serotina*) según **Chisaguano (2012)**, se muestra a continuación.

Dominio: Eucaryota
Reino: Plantae
Filo: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Rosales
Familia: Rosaceae
Género: *Prunus*
Especie: *serotina*

P. serotina es un árbol perenne perteneciente a la familia Rosaceae. Tiene una gran distribución en el continente americano, encontrándose desde las zonas montañosas del sur de México cruzando por toda la cordillera de los Andes hasta el sur de Perú (**Andino-Pilco, 2018**). El árbol puede llegar a tener una longitud de entre 5 y 10 m de altura cuando ha completado su desarrollo. Posee un tronco grueso e irregular con una tonalidad que varía entre gris y marrón. Posee hojas de color verde brillante de entre 6 y 12 cm y presenta flores blancas distribuidas en racimos (**Moncayo Contreras, 2017**).



Figura 7. Capulí (*Prunus serotina* Ehrh)

En esta especie se han realizado estudios del fruto y se ha indicado su capacidad antioxidante y efectos vasodilatadores y antihipertensivos, así mismo, contiene un alto contenido de proteínas y minerales, mismos que pueden ser utilizados como tratamientos alternativos para distintas patologías **(Carrasco-Baquero et al., 2022)**. De los pocos estudios realizados sobre extractos de hojas de esta especie se ha determinado su alto contenido de compuestos bioactivos como glucósidos cianogénicos, polifenoles, flavonoides, ácidos orgánicos, terpenos, vitaminas, antocianinas y muchos otros compuestos que exhiben actividades antioxidantes, antidiabéticas, antimicrobianas, antiinflamatorias y cardiovasculares **(Telichowska et al., 2020)**.

1.1.5 Componentes bioactivos de plantas

Todas las plantas producen sustancias químicas activas en pequeñas proporciones y de concentración indefinida que se encuentran en la matriz celular **(Jha & Sit, 2022)**. Los compuestos bioactivos, se producen en las especies vegetales a través del metabolismo secundario como respuesta a distintos factores de estrés biótico y abiótico, estos mismos pueden ser temperatura, luz, ataques de patógenos, herbívoros, insectos, etc. **(Guerriero et al., 2018)**. Estos metabolitos tienen diversas actividades fisiológicas que pueden ser aprovechadas por la industria farmacéutica para generar productos para el tratamiento de diversas patologías **(Li et al., 2020)**.

1.1.5.1 Extracción de compuestos bioactivos

El método de extracción de principios activos es indispensable al momento de realizar estudios de las propiedades medicinales de plantas. Los procedimientos de extracción permiten obtener los componentes químicos que se encuentran en el material vegetal para su posterior separación, caracterización y evaluación de su actividad biológica **(Valdez López et al., 2022)**.

Existen distintas técnicas para la extracción de compuestos. Por un lado, se encuentran los métodos convencionales donde se encuentra la maceración, infusión, percolación

y reflujo cuyos procedimientos implican el uso de solventes y prolongados tiempos de extracción (**Zhang et al., 2018**).

Por otro lado, existen los métodos no convencionales como la extracción asistida por microondas, extracción con fluidos supercríticos o extracción con líquidos presurizados los cuales requieren de un menor consumo de disolventes orgánicos, menor tiempo de extracción y poseen mayor selectividad (**Osorio-Tobón, 2020**).

De entre las técnicas convencionales de extracción, la maceración es el método más utilizado. El mismo consiste en mezclar materia prima con un solvente de interés (comúnmente etanol) en condiciones ambientales por un determinado periodo de tiempo (por lo menos 3 días) con agitación ocasional para homogenizar la materia prima precipitada. Generalmente el producto es filtrado y el disolvente es eliminado mediante evaporación al vacío (**Bitwell et al., 2023**).

Así mismo, el método de infusión es similar a la maceración y es utilizado para la extracción de compuestos altamente solubles (**Ingle et al., 2017**). En este caso el material vegetal pulverizado se mezcla con el solvente ya sea caliente o frío y se deja reposar por un periodo corto de tiempo para finalmente eliminar el solvente. Este método es simple y económico y se utiliza para realizar extractos frescos antes de su uso (**Abubakar & Haque, 2020**).

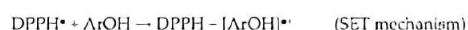
Existen factores que incrementan la eficiencia de la extracción como el tamaño de partícula de la materia prima, polaridad del solvente, la proporción de solvente a sólido, temperatura y tiempo de extracción (**Zhang et al., 2018**).

1.1.5.2 Actividad antioxidante de compuestos bioactivos

Las propiedades antioxidantes en las plantas son atribuidas a los compuestos bioactivos sintetizados durante su metabolismo secundario y se caracterizan por presentar la capacidad de captar radicales libres para evitar procesos de oxidación durante el metabolismo y la formación productos de reacción volátiles que generen daños al organismo en pacientes con enfermedades metabólicas (Peralta & Volke, 2012).

Por lo que, los métodos *in vitro* son utilizados para la cuantificación de la capacidad antioxidante en una muestra biológica, y se basan en ensayos colorimétricos producidos por una reacción de entre moléculas bioactivas y radicales libres (Guija et al., 2015). El ensayo DPPH emplea al radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo y permite cuantificar la capacidad de los compuestos bioactivos presentes en una muestra biológica para neutralizarlo mediante la aceptación de un electrón o átomo de hidrógeno (Figura 8) (F. Xiao et al., 2020). El radical DPPH es un radical orgánico nitrogenado que presenta una coloración violeta oscura, el cual al mezclarse con un compuesto antioxidante produce un cambio de color a amarillo intenso medible a una absorbancia de 515 nm (Baliyan et al., 2022).

Chemical reactions:



where ArOH: phenolic AO

Mechanism of reaction: HAT

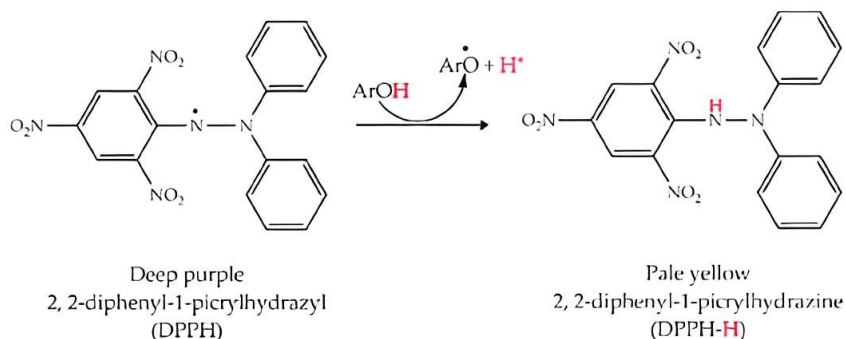


Figura 8. Reacción producida entre DPPH y un antioxidante.

Se presenta un mecanismo de reacción de transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT) desde el antioxidante hacia el radical DPPH.

Fuente: (Sadeer et al., 2020)

1.1.5.3 Actividad hipoglucemiante de compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos de las plantas poseen la capacidad de reducir los niveles de glucosa sanguínea en pacientes diabéticos. Esta capacidad se debe a los mecanismos de inhibición de enzimas clave en el metabolismo de carbohidratos α -amilasa y α -glucosidasa (**Ortíz-Martínez et al., 2016**). Así mismo en ciertos estudios se ha demostrado la capacidad de los metabolitos secundarios de plantas para restaurar las funciones celulares del páncreas, mejorando la condición de los pacientes y los efectos secundarios que les producen los fármacos comerciales (**Rahman et al., 2022**).

Por lo cual, se han realizado estudios enfocados en la caracterización del perfil fitoquímico de diversas especies vegetales para determinar la actividad de los distintos compuestos presentes en las mismas. De estos, los polifenoles y flavonoides son grupos de metabolitos de los cuales existe mayor evidencia sobre la actividad antidiabética (**Tafesse et al., 2017**).

Los compuestos fenólicos son un grupo extenso de metabolitos capaces de establecer interacciones competitivas en el sitio activo de las enzimas que participan en la hidrólisis de carbohidratos complejos y grasas, controlando así la hiperglucemia en la DMT2 (**de Paulo Farias et al., 2021**).

Así mismo, los flavonoides son metabolitos con potencial efecto sobre las enzimas dado que son capaces de generar enlaces no covalentes en el sitio activo de las mismas (**Lim et al., 2022**). El efecto antidiabético de los flavonoides también se debe a su capacidad de regular la apoptosis e incrementar la proliferación de las células β pancreáticas, promoviendo de esta forma la secreción de la insulina y proporcionando un equilibrio en el metabolismo de los carbohidratos para controlar la hiperglucemia (**Alhujaily et al., 2022**).

1.1.5.4 Enzimas involucradas en la digestión de carbohidratos

Los hidratos de carbono son uno de los componentes más importantes presentes en la alimentación diaria y se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (García & López, 2007). Estos compuestos son digeridos en el organismo por acción de las enzimas α -amilasa, maltasa, α -glucosidasa, isomaltosa, sacarasa, glucoamilasa y lactasa, las cuales los hidrolizan hasta obtener monómeros de glucosa asimilables por el organismo (Villarroel et al., 2018).

El almidón es el polisacárido complejo presente con mayor abundancia en la dieta y se encuentra compuesto por moléculas de amilosa (polímero lineal) y amilopectina (polímero ramificado) unidas mediante enlaces glucosídicos (α -1,4 y α -1,6), siendo el sustrato principal para la enzima α -amilasa, la cual es una de las más estudiadas en el proceso de digestión (Peñaranda et al., 2008). La reducción en la actividad biológica de las enzimas digestivas produce una menor absorción de glucosa, considerándose como una alternativa relevante de investigación frente a la hiperglucemia generada en pacientes con DMT2 (Ponce et al., 2018).

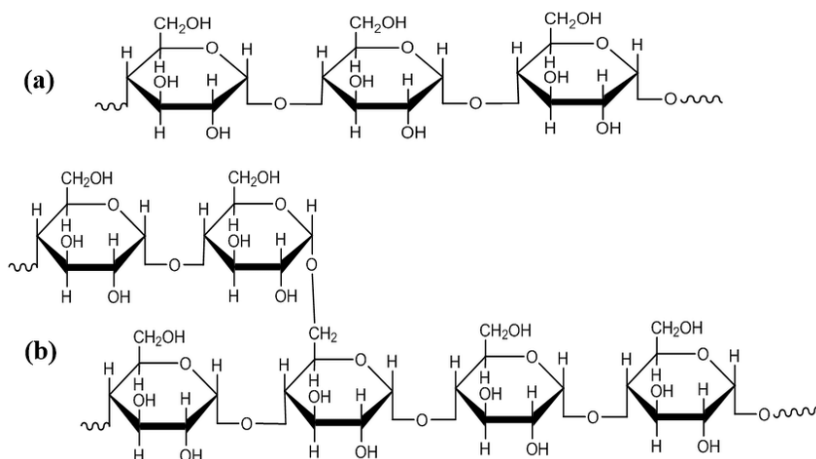


Figura 9. Estructura del almidón.

Representación de la estructura de la amilosa (a) y amilopectina (b)

Fuente: (Amaya, 2018)

1.1.5.5 Método *in vitro* para determinar la actividad hipoglucémica

El ensayo de inhibición de la enzima α -amilasa es utilizado para determinar la capacidad de los principios activos de las plantas para reducir la hiperglucemia en pacientes con diabetes (Ogunyemi et al., 2022). La amilasa (Figura 10) es una enzima digestiva capaz de hidrolizar enlaces α -1,4-D-glicosídicos del almidón en estructuras más sencillas como glucosa y maltosa para que puedan ser absorbidas por la mucosa intestinal (Kaur et al., 2021).

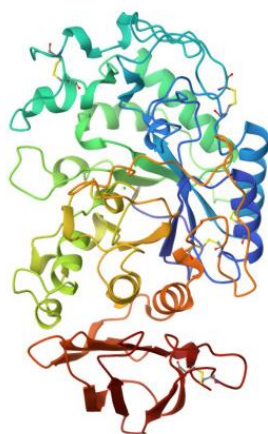


Figura 10. Estructura terciaria en 3D de la enzima α -amilasa.

Fuente: (RCSB PDB, 2023)

El método colorimétrico DNS o método de Miller es utilizado para estimar la concentración de azúcares reductores de una muestra o para cuantificar el producto de una reacción enzimática (Vijayaraghavan et al., 2016). Para el caso de la reacción enzimática de la α -amilasa, se identifican a los grupos reductores maltosa y glucosa proceden de la hidrólisis del almidón por parte de la enzima. Estos productos de la reacción reducen el ácido 3,5- dinitrosalicílico en ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, produciéndose un cambio de coloración amarilla a naranja (Figura 11), el compuesto resultante puede ser cuantificado mediante espectrofotometría y de esta manera establecer la concentración de azúcares determinando así la actividad enzimática (Dangkulwanich et al., 2018).

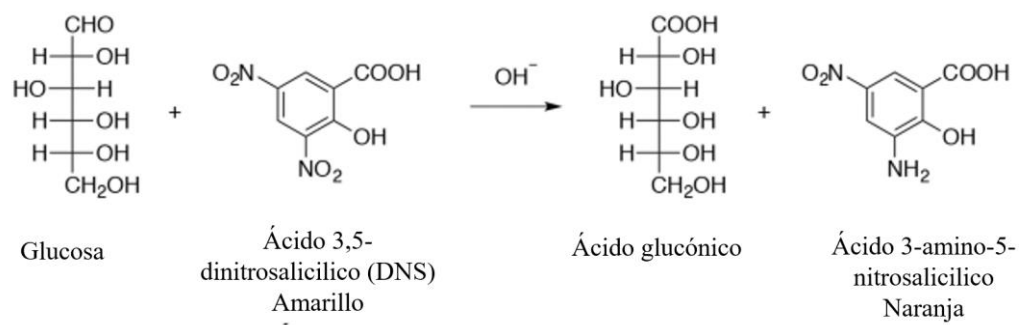


Figura 11. Mecanismo de reacción en el método DNS.

Fuente: (Dangkulwanich et al., 2018).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Evaluar la actividad antioxidante e hipoglucemiante de los extractos de las hojas de Marco (*Ambrosia arborescens*), Quishuar (*Buddleja incana*), Cedrón (*Aloysia citrodora*) y Capulí (*Prunus serotina*).

1.2.2 Objetivos Específicos

1. Obtener los extractos etanólico y acuoso del material vegetal (hojas) mediante las técnicas de maceración e infusión respectivamente.
2. Determinar cualitativa y cuantitativamente los metabolitos secundarios presentes en los extractos vegetales mediante el tamizaje fitoquímico y la concentración de fenoles y flavonoides totales.
3. Analizar la capacidad antioxidante de los diferentes extractos mediante el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).
4. Evaluar el efecto hipoglucémico de cada uno de los extractos mediante la inhibición de la enzima α -amilasa.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1 Materiales

2.1.1 Equipos de laboratorio

- Deshidratador por convección
- Plancha de agitación
- Espectrofotómetro UV
- Termobloque
- Rotoevaporador
- Vortex
- Balanza analítica
- Refrigerador

2.1.2 Reactivos

- Etanol 70%
- Yoduro de bismuto
- Yoduro de potasio
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Fehling
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Lieberman-Burchard
- Solución de ninhidrina 2%
- Ácido clorhídrico concentrado
- Cinta de magnesio
- Alcohol amílico
- Tricloruro férrico 5%
- Cloroformo
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Acetato de cobre
- Ácido Gálico
- Reactivo de Folin-Ciocalteu

- Solución de carbonato de sodio 7% (p/v)
- Solución de cloruro de aluminio 2% (p/v)
- Solución de quercetina
- Solución madre DPPH
- Metanol
- Solución madre Trolox
- Solución de almidón
- Solución de alfa amilasa
- Reactivo DNS
- Hidróxido de sodio
- Tartrato de sodio

2.1.3 Material fungible

- Probeta (10 mL, 50 mL, 100 mL)
- Vasos de precipitación (100 mL, 250 mL, 500 mL, 1000 mL)
- Frasco ámbar (100 mL, 250 mL, 500 mL, 1000 mL)
- Tubos de ensayo 5 mL
- Balón de aforo (100 mL)
- Micropipetas (10 – 100 μ L, 20 – 200 μ L, 100 – 1000 μ L)
- Placa de 96 pocillos
- Tubos de plástico (15 mL)
- Microtubos (1,5 mL)
- Embudo Buchner
- Matraz kitasato
- Gradilla para tubos 15 mL
- Gradilla para microtubos

2.2 Métodos

2.2.1 Obtención de los extractos

2.2.1.1 Recolección del material vegetal

Las muestras de las distintas plantas fueron recolectadas en distintas localidades de la ciudad de Pelileo y Ambato (**Tabla 1**), posterior a la obtención de la autorización de recolección sin fines comerciales del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE) (**Anexo A**).

Tabla 1. Lugares de recolección.

Especie	Lugar	Coordenadas
<i>A. arborescens</i>	Ambato	1°15'13.8"S 78°34'55.5"W
<i>B. incana</i>	Pelileo	1°22'27.4"S 78°34'27.1"W
<i>A. citrodora</i>	Pelileo	1°20'12.3"S 78°30'54.5"W
<i>P. serotina</i>	Ambato	1°15'13.8"S 78°34'55.5"W

El material vegetal fue identificado por el herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y posteriormente fue almacenado en la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

2.2.1.2 Preparación del material vegetal

El material vegetal se desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio al 10% y se lavó con abundante agua para eliminar el exceso de cloro. El secado del material se realizó en un deshidratador por convección a 40 °C de 24 a 48 horas, el material seco fue triturado utilizando una licuadora hasta obtener un polvo fino y fue almacenado en fundas ziplock (**Salles et al., 2020**).

2.2.1.3 Preparación de los extractos

Para la preparación del extracto acuoso se utilizó el método de infusión. Para ello, en un vaso de precipitación se colocó el material vegetal y agua destilada en proporción 1:10 (p/v), después se llevó por 10 min a 90 °C en una plancha de calentamiento con agitación magnética, se esperó a que se enfríe para ser filtrado utilizando un matraz kitasato y una bomba para generar vacío. Finalmente se eliminó el solvente mediante evaporación al vacío. El producto resultante fue almacenado en tubos estériles de plástico en refrigeración hasta su utilización (Urrego et al., 2021).

Para la obtención del extracto etanólico, se utilizó el método de maceración. El material vegetal y etanol al 70% se colocaron en un recipiente de vidrio en proporción 1:10 (p/v) y se dejó en reposo en ausencia de luz por 8 días agitándolo ocasionalmente para distribuir el material vegetal en el solvente. Una vez transcurrido el tiempo, el producto se filtró utilizando un matraz kitasato y una bomba para generar vacío. Finalmente, el solvente se eliminó mediante evaporación al vacío. El producto resultante fue almacenado en tubos estériles de plástico en refrigeración hasta su utilización (Salles et al., 2020).

2.2.1.4 Cálculo del rendimiento

El rendimiento de los extractos de las 4 plantas se calculó mediante la fórmula mencionada por Gonelimali et al. (2018), que se describe a continuación.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{X_1}{X_0} * 100 \quad (1)$$

La Ecuación (1) se empleó para calcular el rendimiento producido por cada uno de los extractos.

Donde:

X₁: Peso del extracto después de la evaporación del solvente.

X₀: Peso seco del polvo vegetal antes de la extracción.

2.2.2 Determinación de metabolitos secundarios

2.2.2.1 Tamizaje fitoquímico

El análisis del perfil fitoquímico de cada planta se realizó con la finalidad de identificar de manera cualitativa los metabolitos presentes en cada uno de los extractos de cada planta. El procedimiento para cada uno de los ensayos se describe a continuación:

- **Ensayo de Wagner**

Se colocó en un tubo de ensayo 2 mL de la solución de extracto y se evaporó el solvente en baño de agua para posteriormente redisolverse en 1 mL de HCl (1%), se calentó levemente y se lo dejó enfriar hasta observar la presencia de turbidez, opalescencia o de un precipitado, lo cual indica la presencia de alcaloides **(Bermejo et al., 2014)**.

- **Ensayo de Dragendorff**

Se colocaron en un tubo de ensayo 2 mL de solución de extracto con 2 mL de reactivo de Dragendorff (solución de yoduro de bismuto y potasio) y se mezcló, se esperó hasta observar la formación de un precipitado rojo anaranjado lo cual confirmó la presencia de alcaloides en la muestra **(Shaikh & Patil, 2020)**.

- **Ensayo de Mayer**

Se colocó en un tubo de ensayo 2 mL de la solución de extracto y se evaporó el solvente en baño de agua para posteriormente disolverse en 1 mL de HCl (1%) y finalmente se le añadió una pizca de NaCl en polvo y 2 o 3 gotas de reactivo de Mayer hasta observar la presencia de turbidez, opalescencia o de un precipitado, indicando la presencia de alcaloides **(Bermejo et al., 2014)**.

- **Ensayo de Fehling**

En un tubo de ensayo se colocó 2 mL de solución de extracto y se evaporó el solvente en baño de agua, posteriormente se disolvió en 2 mL de agua destilada y se adicionó 2 mL de reactivo de Fehling y se calentó por 10 min, finalmente la presencia de una solución rojiza o un precipitado rojo indica la presencia de carbohidratos reductores **(Bermejo et al., 2014)**.

- **Ensayo de Baljet**

Se colocó 2 mL de solución de extracto en un tubo de ensayo y se evaporó el solvente mediante baño de agua, posteriormente se redisolvió en 1 mL de etanol y se añadió 1 mL de reactivo hasta observar la aparición de coloración o un precipitado que indica la presencia de cumarinas **(Bermejo et al., 2014)**.

- **Ensayo de Espuma**

En un tubo de ensayo se mezclaron 1 mL de solución de extracto de la muestra con 1 mL de agua destilada y se agitó vigorosamente hasta observar la formación de espuma lo que indicó la presencia de saponinas en la muestra **(Pujol Garcia et al., 2020)**.

- **Ensayo de Shinoda**

Se colocó 1 mL de extracto, 1 mL de HCl concentrado y pequeños trozos de cinta de magnesio en un tubo de ensayo. Se dejó en reposo por 5 min para posteriormente añadir 1 mL de alcohol amílico, el cambio de coloración de amarillo a rojo confirmó la presencia de flavonoides **(Shaikh & Patil, 2020)**.

- **Ensayo de Cloruro férrico**

En un tubo de ensayo con 1 mL de extracto en solución se le añadió de 3-4 gotas de cloruro férrico al 10% (p/v) y se agitó. La coloración azul o verde indicó la presencia de fenoles y/o taninos en la muestra (**Shaikh & Patil, 2020**).

- **Ensayo de Gelatina**

Se añadió en un tubo 1 mL de extracto y 1 mL de una solución de gelatina al 1%. La formación de un precipitado blanco indicó la presencia de taninos (**Shaikh & Patil, 2020**).

- **Ensayo de Lieberman-Burchard**

A 2 mL de extracto se añadió 1 mL de anhídrido ácido y se llevó a calentamiento por 5 min, posteriormente se trató con ácido sulfúrico concentrado. Finalmente se agregó reactivo de Lieberman-Burchard. La aparición de una coloración verdosa indica la presencia de esteroides y triterpenos (**Hossain et al., 2022**).

- **Ensayo de Acetato de Cobre**

A una solución de extracto se añadirán 3 gotas de acetato de cobre 10%, la formación de un color verde esmeralda indica presencia de diterpenos (**Shaikh & Patil, 2020**).

- **Ensayo de Borntanger**

El extracto en solución se mezcló en 1 mL de cloroformo, se adicionó 1 mL de hidróxido de sodio al 5%, se agitó fuertemente y se dejó reposar hasta que se visualice la separación de las fases. La coloración rosada o roja de la fase alcalina acuosa indicó presencia de quinonas (**Pujol Garcia et al., 2020**).

- **Ensayo de Resinas**

A 2 mL de solución de extracto se le añadió 10 mL de agua destilada y se dejó reposar por 10 min. La presencia de un precipitado indicó la presencia de resinas (**Shaikh & Patil, 2020**).

- **Ensayo de Ninhidrina**

A una solución de extracto se le añadió 2 mL de solución de ninhidrina al 2% en agua. La mezcla se llevó a calentamiento por 5 min a 80°C a baño maría. El ensayo resulta positivo para aminoácidos libres si se desarrolla una coloración violeta azulada (**Pujol Garcia et al., 2020**).

- **Ensayo de Antocianidinas**

A 2 mL de una solución de extracto se le añadió 2 mL de HCl y se incubó por 5 min a 80 °C a baño maría y posteriormente se añadió 1 mL de amónico. El cambio de color de la solución a azul violáceo indica la presencia de antocianinas (**Shaikh & Patil, 2020**).

2.2.2.2 Cuantificación de fenoles y flavonoides totales

- **Fenoles totales**

Para la cuantificación del contenido de compuestos fenólicos totales se siguió el ensayo del método de Folin-Ciocalteu modificado. Para esto, en una placa de 96 pocillos se colocaron 10 µL del extracto en dilución 1:50, a lo cual se añadió 130 µL de agua destilada y finalmente 10 µL del reactivo Folin-Ciocalteu. Se dejó reaccionar por 6 min para posteriormente añadir 100 µL de una solución de carbonato de sodio al 7% (p/v). La reacción se incubó a temperatura ambiente por 90 min en ausencia de luz y finalmente se midió la absorbancia de cada muestra a una longitud de onda de 750 nm. Para la calibración se realizó una curva estándar, la misma se preparó con

soluciones seriadas de ácido gálico estándar (EAG) de entre 10 a 100 mg/L. El contenido de fenoles totales fue expresado como equivalente de miligramos de ácido gálico por gramos de peso seco de la muestra (mg EAG/gPS) (**Baek et al., 2021**).

- **Flavonoides totales**

Para la determinación del contenido de flavonoides totales, se siguió el método de cloruro de aluminio. Para ello, se mezclaron 60 μ L del extracto en solución 1:10 con 120 μ L de una solución de cloruro de aluminio al 2% (p/v) y se incubó la mezcla a temperatura ambiente por 60 min. Posteriormente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm. Para la calibración se realizó una curva estándar de quercetina (QE), la misma se preparó con soluciones seriadas de entre 10 a 100 mg/L. El contenido de flavonoides totales fue expresado como equivalente de miligramos de quercetina por gramos de peso seco de la muestra (mg QE/g PS) (**N'guessan et al., 2021**).

2.2.3 Análisis de la capacidad antioxidante

Para la evaluación de la capacidad antioxidante presente en los extractos se empleó la técnica DPPH descrita por **Bobo et al. (2015)**, con ciertas modificaciones.

2.2.3.1 Preparación de DPPH y Trolox

Se preparó una solución madre de DPPH (150 μ M) al disolver 0.0059 g de reactivo con 100 mL de solución diluyente formada por metanol-agua en proporción 80:20, posteriormente se cubrió a la solución frente a la exposición de la luz y se la agitó entre 30-40 min. Adicionalmente se realizó una solución madre de Trolox (500 μ M) disolviendo 0.0125 g de reactivo en 100 mL de solución diluyente metanol-agua en proporción 50:50 y finalmente se la agitó para homogenizar los componentes. En base a la solución madre de Trolox se prepararon concentraciones de reactivo de 50, 100, 200, 300, 400 y 500 μ M para la generación de una curva de calibración.

2.2.3.2 Medición de la actividad antioxidante

El proceso experimental se realizó en una placa de 96 pocillos a la cual se le añadió el blanco, control y el extracto de las distintas especies vegetales de estudio para su lectura a 515 nm, en los cuales se encontraba:

Blanco: Se colocó 180 μL de diluyente para DPPH formado por metanol-agua (80:20) y 20 μL de agua destilada o etanol respectivamente.

Control: Se colocó 180 μL de solución DPPH y 20 μL de agua destilada o etanol respectivamente.

Extracto: Se colocó 180 μL de solución DPPH y 20 μL de extracto diluido.

2.2.3.3 Determinación del porcentaje de inhibición de DPPH

El porcentaje de inhibición se calculó acorde a la siguiente fórmula:

$$\%Inhibición\ DPPH = \left[1 - \left(\frac{A_m - A_b}{A_c - A_b} \right) \right] \times 100 \quad (2)$$

Donde A_m corresponde a la absorbancia de la muestra a 515 nm, A_b a la absorbancia del blanco a 515 nm y A_c a la absorbancia del control a 515 nm.

La Ecuación (2) fue empleada para calcular el porcentaje de inhibición DPPH producido por cada uno de los extractos.

2.2.4 Evaluación de la capacidad hipoglucémica

Para la evaluación de la capacidad hipoglucémica presente en los extractos vegetales realizados se empleará los ensayos de inhibición de α -amilasa, en base a la metodología empleada por **Coronado et al. (2021)**, con ciertas modificaciones como se detalla a continuación.

2.2.4.1 Ensayo enzimático α -amilasa

Se mezcló un volumen de 50 μ L de cada extracto realizado a distintas concentraciones con 50 μ L de solución enzimática alfa amilasa (5 U/mL), la cual fue previamente disuelta en 0.1 M de tampón fosfato salino (PBS) (pH 6.9). La mezcla se llevó a incubación en un termobloque a 37 °C durante 60 min y posteriormente se adicionó 50 μ L de una solución de almidón (0.5% (p/v)) disuelta en 0.1 M tampón fosfato salino (pH 6.9), para incubarse nuevamente a 37°C por 5 min. Una vez transcurrido el tiempo, se detuvo la reacción producida mediante la adición de 50 μ L de reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico 96 mM), se incubó en un termobloque a 100 °C durante 5 min. y se dejó enfriar 5 min a temperatura ambiente. Por último, se leyó la absorbancia a 540 nm empleando un espectrofotómetro UV-visible. La absorbancia final de la muestra se obtuvo restándole la lectura del blanco a la de la muestra correspondiente y se calculó el porcentaje de inhibición enzimática generado acorde a la fórmula:

$$\%Inhibición = \frac{A_c - A_m}{A_m} \times 100 \quad (3)$$

Donde A_c corresponde a la Absorbancia del control a 540 nm y A_m a la absorbancia de la muestra a 540 nm.

La Ecuación (3) fue empleada para calcular el porcentaje de inhibición de α -amilasa producido por cada uno de los extractos.

2.2.4.3 Análisis de datos

Para el análisis estadístico de los resultados de los porcentajes de inhibición enzimática se realizará un análisis de varianza ANOVA y una prueba de comparación Tukey con un nivel de confianza del 95% mediante el programa STATGRAPHICS.

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

3.1.1 Rendimiento de extractos vegetales

Los extractos acuosos y etanólicos obtenidos a partir de las hojas de Marco (*A. arborescens*), Quishuar (*B. incana*), Cedrón (*A. citrodora*) y Capulí (*P. serotina*) se realizaron mediante los métodos de infusión y maceración respectivamente, para lo cual, se obtuvo el rendimiento porcentual presente en cada matriz empleando la Ecuación 1, y se lo presenta en la **Tabla 2**, donde los mayores rendimientos de extracción se presentaron por el método de infusión para el marco y el cedrón, con 12.5% y 18.30% respectivamente.

Tabla 2. Rendimiento de extracción de las especies vegetales.

Especie vegetal	Extracción	Rendimiento (%)
<i>A. arborescens</i>	Maceración	10.30
	Infusión	12.50
<i>B. incana</i>	Maceración	11.10
	Infusión	10.60
<i>A. citrodora</i>	Maceración	15.50
	Infusión	18.30
<i>P. serotina</i>	Maceración	17.20
	Infusión	16.60

En un estudio realizado por **Chamorro (2020)**, se logró obtener un rendimiento del extracto de *A. arborescens* del 9.84% mediante una extracción con etanol al 76% y un tiempo de maceración de 72 horas. En contraste con los resultados obtenidos (**Tabla 2**), se obtuvo un rendimiento ligeramente superior al reportado por el autor en mención.

De acuerdo con **Guerriero et al. (2018)** uno de los factores que influyen directamente en la extracción, es el contacto entre el material vegetal y el solvente. Por lo que, esta diferencia puede atribuirse al hecho de que, en el estudio citado, los recipientes del macerado se mantuvieron estáticos mientras que, en la presente investigación, los mismos se agitaron ocasionalmente. Por otro lado, el rendimiento de extracción para *A. arborescens* mediante infusión fue del 12.50%, siendo este levemente superior al extracto etanólico. Según lo encontrado en estudios de *A. arborescens* y *A. peruviana* realizados por **Quishpe (2018)** y **Fernández (2019)** respectivamente reportan la extracción mediante el método de infusión, sin embargo, no presentan el rendimiento obtenido utilizando este método.

Para el caso de los extractos de *B. incana* se obtuvieron rendimientos del 11.10% y 10.60% mediante extracción por maceración e infusión respectivamente, en este caso la diferencia de rendimiento entre los métodos de extracción es mínima. En un estudio previo realizado por **Paucar Cuba et al. (2021)**, se informó un rendimiento de extracción de aproximadamente 9.4% para *B. incana* utilizando una solución hidroalcohólica al 75%.

Por otro lado, **Llanga (2014)**, en su trabajo reportó un rendimiento del 9.23% para el extracto etanólico de *B. incana*, siendo valores levemente inferiores a los reportados en la **Tabla 2**. Hasta la presente fecha no se han reportado rendimientos de extracción en fase acuosa para esta especie. De acuerdo con **Zhang et al. (2018)**, las soluciones de etanol y metanol son los solventes más utilizados para la extracción de compuestos bioactivos debido a su bajo costo, polaridad y seguridad.

En *A. citrodora* por otra parte, se obtuvo un rendimiento del 15.50% mediante la técnica de maceración y 18.30% para la técnica de infusión. Esta especie fue la que mayor rendimiento arrojó en el estudio en ambos tipos de extracción. En contraste con lo reportado por **H. M. Rashid et al. (2022)** se obtuvo un rendimiento de 5.25% y 5.50% mediante extracción por maceración e infusión respectivamente.

Los valores reportados por el autor en mención se relacionan ligeramente con los obtenidos en el presente estudio al exhibirse un mejor rendimiento en la extracción en fase acuosa. Por otra parte, **Yungán (2019)** reporta un rendimiento del 31% realizando extracción por maceración con etanol al 70%, este valor es muy superior al encontrado en el presente estudio, sin embargo, cabe destacar que como indica **Yang et al. (2018)**, la presencia de metabolitos en las matrices vegetales depende de la zona geográfica, cantidad de luz, salinidad del suelo, temperatura, entre otros.

El rendimiento de extracción de *P. serotina* fue de 16.60% y 17.20% para las técnicas de infusión y maceración respectivamente, lo cual es similar a lo obtenido por **Karabegovic et al. (2014)**, donde menciona que se obtuvo un rendimiento de extracción en hojas de la especie *P. laurocerasus* del 21.30% en base metanólica al aplicarse un método convencional, mientras que se exhibió un rendimiento del 42.80% al utilizar una extracción Soxhlet, por lo que, el método de extracción es un factor a considerar en relación a la variación producida respecto al rendimiento.

Acorde a lo mencionado por **Soto & Rosales (2016)**, el rendimiento producido durante un proceso de extracción depende en gran medida del tipo de solvente utilizado, debido a la naturaleza química de los compuestos bioactivos presentes en la matriz vegetal de interés, lo cual se encuentra determinado por la concentración, temperatura, tiempo de exposición y la cantidad de solvente administrado a la muestra. Es por esta razón que puede existir gran variabilidad de resultados en los estudios realizados en plantas.

Por otro lado, los solventes utilizados durante la extracción de metabolitos secundarios poseen un alto nivel de polaridad, lo cual influye sobre la solubilidad de los compuestos bioactivos debido a sus grupos funcionales tipo hidroxilo, carboxilo o dobles enlaces en su estructura, siendo clasificados según su polaridad desde hexano, cloroformo, metanol, etanol y agua (**González, 2009**). El mayor rendimiento

de los extractos acuosos obtenidos por infusión podría deberse a la elevada polaridad del solvente presente en el medio, y a la temperatura de exposición a la que se realizaron los extractos vegetales.

3.1.2 Determinación de metabolitos secundarios

Las pruebas fitoquímicas permiten identificar los principales metabolitos secundarios presentes en distintas especies vegetales para dar un acercamiento a sus propiedades biológicas, por lo que, se emplean ensayos cualitativos en base a la formación de precipitados o cambios de coloración (**L. Carvajal et al., 2009**). Por ello, los extractos etanólicos y acuosos de Marco (*A. arborescens*), Quishuar (*B. incana*), Cedrón (*A. citrodora*) y Capulí (*P. serotina*) fueron caracterizados a través de pruebas cualitativas donde se determinaron sus principales compuestos bioactivos.

Los metabolitos secundarios presentes en *A. arborescens* (Marco) se muestran en la **Tabla 3**, donde se observa una abundancia de saponinas y alcaloides, seguido de carbohidratos reductores, fenoles, taninos, triterpenos, diterpenos, flavonoides y aminoácidos libres en menor cantidad para el extracto etanólico y acuoso. Estos resultados son similares a los reportados por **Alvarado & Fuertes (2017)**, el cual determinó en su investigación que el extracto hidroalcohólico de esta especie presenta un contenido muy abundante de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, sesquiterpenos, taninos y en menor proporción antraquinonas.

Del mismo modo, **Huamanteca & Rodríguez (2019)**, expusieron que el extracto etanólico de *A. arborescens* presenta en su composición taninos, flavonoides, esteroides, triterpenos, quinonas y alcaloides en su composición. Adicionalmente, **Chamorro (2020)**, indicó que existen mayormente alcaloides como principal metabolito secundario, seguido de fenoles, taninos y terpenos, destacando la ausencia de glicósidos, esteroides y saponinas.

Tabla 3. Determinación cualitativa de los metabolitos presentes en el extracto de las hojas de *A. arborescens*.

Ensayo	Metabolito	Tipo de extracción	
		Maceración	Infusión
Wagner	Alcaloides	++	+
Dragendorff	Alcaloides	++	++
Mayer	Alcaloides	++	+
Fehling	Carbohidratos	+	+
	Reductores		
Baljet	Cumarinas	-	-
Cloruro férrico	Fenoles y/o	+	+
	taninos		
Gelatina	Taninos	+	+
Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o	+	+
	esteroides		
Acetato de Cobre	Diterpenos	+	+
Borntrager	Quinonas	-	+
Shinoda	Flavonoides	+	+
Espuma	Saponinas	+++	+++
Resinas	Resinas	-	-
Nihidrina	Aminoácidos	+	+
	libres		
Antocianidinas	Antocianinas	-	-

Leyenda: + Presencia escasa, ++ Presencia relativamente abundante, +++ Presencia abundante, - No detectado

En el caso del *B. incana* (Quishuar), se presentaron los metabolitos secundarios que se indican en la **Tabla 4**, donde se obtuvo en el extracto macerado una presencia abundante de saponinas, alcaloides y azúcares reductores, seguido de una menor proporción de cumarinas, fenoles, taninos, triterpenos, diterpenos, quinonas y flavonoides, diferenciándose del extracto acuoso únicamente por la ausencia de saponinas en esta matriz.

Los metabolitos encontrados, concuerdan con lo reportado por **Llanga (2014)**, donde se menciona que el extracto hidroalcohólico de *B. incana* posee una abundancia de triterpenos, flavonoides, taninos, azúcares reductores, quinonas, lactonas y catequinas, mientras que en el extracto acuoso se presentan en menor medida taninos, flavonoides y azúcares reductores, descartándose a los alcaloides, saponinas y mucílagos en ambos casos. Así mismo, **Paucar Cuba et al. (2021)**, indica que existen compuestos fenólicos, taninos, saponinas, triterpenoides y alcaloides al realizar una extracción en etanol absoluto y en base hidroalcohólica en la misma matriz vegetal.

Tabla 4. *Determinación cualitativa de los metabolitos presentes en el extracto de las hojas de B. incana.*

Ensayo	Metabolito	Tipo de extracción	
		Maceración	Infusión
Wagner	Alcaloides	+	-
Dragendorff	Alcaloides	++	+
Mayer	Alcaloides	+	+
Fehling	Carbohidratos	++	+
	Reductores		
Baljet	Cumarinas	+	+
Cloruro férrico	Fenoles y/o	+	+
	taninos		
Gelatina	Taninos	+	+
Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o	+	+
	esteroides		
Acetato de cobre	Diterpenos	+	+
Borntrager	Quinonas	+	+
Shinoda	Flavonoides	+	+
Espuma	Saponinas	+++	-
Resinas	Resinas	-	-
Nihidrina	Aminoácidos	-	-
	libres		

Antocianidinas	Antocianidinas	-	-
----------------	----------------	---	---

Leyenda: + Presencia escasa, ++ Presencia relativamente abundante, +++ Presencia abundante,
- No detectado

De los metabolitos presentes en *A. citrodora* (Cedrón) como se demuestra en la **Tabla 5**, se encontraron alcaloides, carbohidratos reductores y saponinas con gran abundancia en el extracto etanólico y en menor proporción en el extracto acuoso, así también cumarinas, triterpenos, diterpenos, fenoles, taninos, flavonoides y aminoácidos libres en la misma proporción para ambos tipos de extracto. De la misma forma, los metabolitos secundarios fueron identificados de forma cualitativa por **Rojas Molina et al. (2022)** utilizando extracto etanólico de *A. citrodora* donde se encontraron alcaloides y triterpenos con una intensidad reducida mientras que metabolitos como catequinas, saponinas, compuestos fenólicos, quinonas y flavonoides presentaron una mayor intensidad.

Panchi et al. (2020) en su estudio concuerda con los metabolitos mencionados anteriormente. Además, presenta los metabolitos del extracto acuoso donde se pueden encontrar azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos y flavonoides. Así mismo, **Andramuño et al. (2022)** en un estudio comparativo de los extractos acuoso y etanólico del *A. citrodora* reporta la presencia de alcaloides, flavonoides, saponinas y compuestos fenólicos y taninos en similar proporción mientras que los triterpenos tuvieron una mayor intensidad en el extracto etanólico y por su parte los azúcares reductores variaron entre las distintas muestras analizadas por el autor mencionado.

Tabla 5. Determinación cualitativa de los metabolitos presentes en el extracto de las hojas de *A. citrodora*.

Ensayo	Metabolito	Tipo de extracción	
		Maceración	Infusión
Wagner	Alcaloides	+	-
Dragendorff	Alcaloides	+++	+
Mayer	Alcaloides	+	-

Fehling	Carbohidratos	+	+++
	Reductores		
Baljet	Cumarinas	+	+
Cloruro férrico	Fenoles y/o taninos	+	+
Gelatina	Taninos	+	+
Liebermann- Burchard	Triterpenos y/o esteroides	+	+
Acetato de cobre	Diterpenos	+	+
Borntrager	Quinonas	-	+
Shinoda	Flavonoides	+	+
Espuma	Saponinas	++	-
Resinas	Resinas	-	-
Nihidrina	Aminoácidos libres	+	+
Antocianidinas	Antocianidinas	-	-

Leyenda: + Presencia escasa, ++ Presencia relativamente abundante, +++ Presencia abundante, - No detectado

De igual forma, en la **Tabla 6** se observan los metabolitos presentes en los extractos acuoso y etanólico de *P. serotina* (Capulí), donde existió mayor intensidad en los alcaloides y cumarinas en el extracto etanólico. En menor proporción se pudieron hallar carbohidratos reductores, triterpenos, taninos, diterpenos, quinonas, flavonoides, antocianidinas y aminoácidos libres. Además, se evidenció una ausencia de saponinas en ambos tipos de extracto.

Estos metabolitos así mismo fueron identificados por **Romero et al. (2021)**, que reportó la presencia abundante de compuestos fenólicos, taninos, saponinas, antraquinonas y flavonoides. Además, informó una menor presencia de carbohidratos, azúcares reductores, triterpenos y alcaloides. Así mismo, **Alvarado & Fuertes (2017)** realizaron el tamizaje fitoquímico de *P. serotina* donde encontró alcaloides, antraquinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y saponinas, además, reporto la presencia de lactonas sesquiterpénicas. De acuerdo con **Martino & Sulsen**

(2019), este grupo de metabolitos poseen una diversidad de actividades biológicas como capacidad antimicrobiana, antitumoral, antiviral, antioxidante y hepatoprotectora.

Tabla 6. Determinación cualitativa de los metabolitos presentes en el extracto de las hojas de *P. serotina*.

Ensayo	Metabolito	Tipo de extracción	
		Maceración	Infusión
Wagner	Alcaloides	++	+
Dragendorff	Alcaloides	++	+
Mayer	Alcaloides	+	+
Fehling	Carbohidratos	+	+
	Reductores		
Baljet	Cumarinas	+	+++
Cloruro férrico	Fenoles y/o	+	+
	taninos		
Gelatina	Taninos	+	+
Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o	+	+
	esteroides		
Acetato de cobre	Diterpenos	+	+
Borntrager	Quinonas	+	+
Shinoda	Flavonoides	+	+
Espuma	Saponinas	-	-
Resinas	Resinas	-	+
Nihidrina	Aminoácidos	+	+
	libres		
Antocianidinas	Antocianidinas	+	+

Leyenda: + Presencia escasa, ++ Presencia relativamente abundante, +++ Presencia abundante, - No detectado

Cabe recalcar que los polifenoles son metabolitos secundarios que poseen una gran variedad de estructuras químicas y actividad biológica, con un gran interés nutricional

debido a su contribución hacia la salud humana (Martín, 2018). Entre estos compuestos se destacan dos grandes grupos donde se encuentran fenoles y flavonoides, a los cuales se les atribuyen propiedades relacionadas con la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y enfermedades neurodegenerativas atribuidas a sus metabolitos bioactivos (Peñarrieta et al., 2014).

Por lo tanto, el contenido de fenoles y flavonoides totales presente en cada uno de los extractos vegetales se cuantificaron mediante el método de Folin-Ciocalteu y el método de cloruro de aluminio respectivamente. En la **Tabla 7** se expresa el contenido de fenoles totales en mg Equivalente de ácido gálico por cada gramo de peso seco (mg EAG/g PS), mientras que en la **Tabla 8** se reporta el contenido de flavonoides totales en mg Equivalente de quercetina por gramo de peso seco (mg EQ/g PS), para los extractos etanólicos y acuosos realizados en ambos casos.

Tabla 7. Cuantificación del contenido de fenoles totales de las distintas especies vegetales.

Especie vegetal	Extracción	Fenoles totales mg EAG/g PS
<i>A. arborescens</i>	Maceración	27.703 ± 6.735
	Infusión	26.605 ± 7.501
<i>B. incana</i>	Maceración	78.888 ± 8.523
	Infusión	54.197 ± 3.867
<i>A. citrodora</i>	Maceración	40.987 ± 4.128
	Infusión	54.814 ± 2.000
<i>P. serotina</i>	Maceración	82.160 ± 4.192
	Infusión	156.543 ± 7.610

Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de Ácido Gálico por cada gramo de peso seco de extracto (mg EAG/g PS)

El extracto etanólico de *A. arborescens* (Marco) presentó un contenido fenólico total de 27.703 ± 6.735 mg EAG/g PS, mientras que su extracto acuoso posee 26.605 ± 7.501 mg EAG/g PS con un leve aumento en la matriz hidroalcohólica. Estos

resultados son relativamente menores a los reportados por **Chamorro (2020)**, con un contenido fenólico total de $45.630 \pm 0,200$ y $56,430 \pm 0,400$ mg EAG/g PS para la misma especie en distintas zonas geográficas, por lo que, este es posiblemente un factor que tomar en consideración respecto al contenido de compuestos bioactivos.

El extracto etanólico de *B. incana* (Quishuar) presentó un contenido fenólico total de 78.888 ± 8.520 mg EAG/g PS, mientras que su extracto acuoso 54.197 ± 3.867 mg EAG/g PS, observándose un ligero aumento en el extracto obtenido mediante maceración. Estos resultados son considerablemente superiores a los reportados por **Llanga (2014)** de 27.470 y 47.400 mg EAG/g PS para la extracción hidroalcohólica de *B. incana* realizado en distintas zonas geográficas y presentándose diferencias entre las mismas. En base a lo mencionado, se considera que sus condiciones de desarrollo o extracción intervienen en el contenido de compuestos bioactivos. Por su parte **Guija et al. (2009)** y **Paucar Cuba et al. (2021)**, presentaron un contenido fenólico para la misma especie de 111.780 mg EAG/g PS y 172.580 mg EAG/g PS respectivamente, mucho mayor al obtenido en este estudio.

El contenido total de compuesto fenólicos presentes en el extracto etanólico de *A. citrodora* (Cedrón) fue de 40.987 ± 4.128 mg EAG/g PS, a diferencia del extracto acuoso que presentó 54.814 ± 2.000 mg EAG/g PS, siendo este un valor superior al obtenido para el extracto etanólico. En contraste, **H. M. Rashid et al. (2022)** obtuvo un valor de 117.130 mg EAG/g PS para la extracción en etanol y 66.600 mg EAG/g PS para la extracción acuosa. Estos valores muestran una marcada diferencia entre los resultados del autor ya que en su estudio reporta valores superiores, además la extracción en fase acuosa presenta un menor contenido de fenoles totales que en la fase etanólica.

Así mismo, **Rojas Molina et al. (2022)** obtuvo un contenido superior de compuestos, en su estudio para *A. citrodora*, reportando 102.130 mg EAG/g PS en extracción hidroalcohólica. Cabe recalcar que, uno de los factores que influye en el contenido de metabolitos en las matrices vegetales es la ubicación geográfica, esto es respaldado

por **Tammar et al. (2021)** al reportar valores de *A. citrodora* recolectado en cuatro localidades diferentes de 11.660 ± 0.120 mg EAG/g PS, 12.750 ± 0.130 mg EAG/g PS, 29.160 ± 0.300 mg EAG/g PS y 25.500 ± 0.260 mg EAG/g PS mismos que son significativamente inferiores a los generados en la investigación.

En el extracto etanólico y acuoso de *P. serotina* (Capulí) se encontró un contenido total de compuestos fenólicos de 82.160 ± 4.192 mg EAG/g PS y 156.543 ± 7.610 mg EAG/g PS respectivamente. En cuanto a lo reportado en estudios previos, **Telichowska et al. (2020)**, utilizando una extracción en fase acuosa de las hojas presenta un valor menor al mencionado previamente, de 21.540 mg EAG/g PS para la especie *P. serotina* y así mismo indica un contenido de 37.390 mg EAG/g PS para la especie *P. padus*, debido a que en el estudio en mención se realizó únicamente centrifugación y decantación, lo que puede ser una razón de la diferencia en los resultados.

Por otra parte, en un estudio realizado en *P. pérsica*, **Kazan et al. (2014)** determinó un contenido de fenoles totales de 79.92 mg EAG/g PS en el extracto de las hojas de la especie vegetal. En este último estudio, se utilizó extracción por fluido supercrítico lo cual es un factor clave para obtener un mayor contenido de compuestos fenólicos dado que es un método de extracción no convencional de alto rendimiento.

Tabla 8. Cuantificación del contenido de flavonoides totales de las distintas especies vegetales.

Especie vegetal	Extracción	Flavonoides totales mg EQ/g PS
<i>A. arborescens</i>	Maceración	18.991 ± 0.606
	Infusión	10.260 ± 0.315
<i>B. incana</i>	Maceración	21.077 ± 1.034
	Infusión	13.518 ± 0.206

<i>A. citrodora</i>	Maceración	26.271 ± 0.997
	Infusión	20.615 ± 1.785
<i>P. serotina</i>	Maceración	41.217 ± 1.816
	Infusión	25.625 ± 0.368

Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de Quercetina por cada gramo de peso seco de extracto (mg EQ/g PS)

Según lo reportado en la **Tabla 8** en *A. arborescens* presentó un contenido total de flavonoides de 18.991 ± 0.606 mg EQ/g PS para el extracto etanólico y 10.260 ± 0.315 mg EQ/g PS para el extracto acuoso. Estos resultados son considerablemente mayores a los obtenidos por **Chamorro (2020)**, que obtuvo 0.599 mg EQ/g PS y 0.657 mg EQ/g PS para la misma especie, pero se exhibió la mayor cantidad de compuestos bioactivos en la matriz etanólica en comparación a los extractos realizados con metanol y diclorometano en el mismo estudio, por lo que, se le considera como uno de los solventes más adecuados para la extracción, al igual que en la presente investigación.

Se obtuvo un contenido total de flavonoides en *B. incana* de 21.077 ± 1.034 mg EQ/g PS para el extracto etanólico y 13.518 ± 0.206 mg EQ/g PS para el extracto acuoso. Estos resultados son significativamente menores a los mencionados por **Paucar Cuba et al. (2021)**, donde se reportó un contenido de flavonoides de 369.24 ± 0.070 mg EQ/g PS para la misma especie, debido posiblemente a que en este estudio se realizó un proceso de maceración a 40 °C en etanol al 75%, lo cual favorece a la liberación de compuestos bioactivos.

Así mismo para *A. citrodora* los valores obtenidos fueron de 26.271 ± 0.997 mg EQ/g PS para el extracto etanólico y 20.615 ± 1.785 mg EQ/g PS para el extracto acuoso, siendo el extracto etanólico el que mayor contenido de flavonoides presenta. En contraste con **Cheurfa & Allem (2016)**, los valores obtenidos son considerablemente superiores a los reportados por los autores, debido a que en su investigación se obtuvieron valores de 6.810 ± 0.100 mg EQ/g PS para el extracto acuoso y $6.420 \pm$

0.100 mg EQ/g PS para el extracto etanólico, siendo en ese caso el extracto acuoso el que presenta mayor contenido de flavonoides. Por otro lado, **Yungán (2019)** al realizar la extracción en etanol al 70% reporta un valor de 10.893 ± 0.050 mg EQ/g PS que de igual forma es inferior al obtenido en el presente estudio.

Finalmente, para el *P. serotina*, los valores fueron de 41.217 ± 1.816 mg QE/g PS y 25.625 ± 0.368 mg QE/g PS para los extractos acuoso y etanólico respectivamente, de igual forma en esta especie vegetal es el extracto etanólico fue el que posee mayor contenido de flavonoides. **El-Hawary et al. (2020)** en su análisis del contenido de flavonoides para *P. persica* reporta un contenido de 31.050, 34.100 y 39.770 mg QE/g PS, en extractos de hojas obtenidos mediante maceración utilizando etanol al 80% siendo resultados ligeramente cercanos a los reportados en la **Tabla 8**. En contraste, **Zahid (2019)** ha reportado un contenido de flavonoides para *P. domestica* de 96.130 mg QE/g PS y 94.220 mg QE/g PS para *P. persica* siendo estos valores superiores tanto a los del estudio presente como a los reportados por **El-Hawary et al. (2020)**.

3.1.3 Análisis de la capacidad antioxidante

Los compuestos antioxidantes son producidos de manera natural por las plantas frente a condiciones de estrés generadas en su entorno, los cuales presentan una elevada importancia frente a enfermedades relacionadas con el metabolismo. Dichos compuestos permiten contrarrestar el estrés oxidativo producido por una sobreproducción de especies reactivas del oxígeno y de esta manera evitar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, cáncer, neoplasia, arteriosclerosis, entre otras, causadas por daños producidos en las células (**Gallego, 2016; Zárate et al., 2021**).

La capacidad antioxidante presente en los extractos vegetales se determinó mediante el método DPPH. En la **Tabla 9** se presenta la actividad antioxidante expresada como porcentaje de inhibición del radical libre DPPH por parte de los extractos etanólico y acuosos, calculados mediante la Ecuación 2; adicionalmente se reportan los μmol

equivalentes de Trolox/L (**Tabla 10**) obtenidos mediante la curva de calibración realizada (**ANEXO D**).

Tabla 9. Capacidad antioxidante de las distintas especies vegetales.

Planta / Extracción	<i>A. arborescens</i>	<i>B. incana</i>	<i>A. citrodora</i>	<i>P. serotina</i>
% Inhibición del radical DPPH				
Maceración	79.915 ± 0.446 ^{b d**}	84.619 ± 1.034 ^{c e**}	70.957 ± 0.712 ^{a b**}	80.028 ± 1.409 ^{b d**}
Infusión	77.408 ± 0.523 ^{b* c**}	81.521 ± 1.017 ^{c* d**}	65.408 ± 1.090 ^{a* a**}	77.464 ± 0.738 ^{b* c**}

Nota: Los datos que se muestran son la media de 6 réplicas y representan la media y ± SD. Las letras diferentes (a, b, c, d, e) en la misma fila indican diferencias significativas. $\rho < 0.05$ ANOVA post hoc prueba de Tukey para los porcentajes de inhibición. Extractos etanólicos (Letra sin asterisco); Extracto acuoso (*); Todos los tratamientos (**)

Tabla 10. Contenido equivalente de Trolox de las distintas especies vegetales.

Planta / Extracción	<i>A. arborescens</i>	<i>B. incana</i>	<i>A. citrodora</i>	<i>P. serotina</i>
µmol Equivalente de Trolox/L				
Maceración	448.078 ± 2.537	474.837 ± 5.884	397.124 ± 4.052	448.719 ± 8.014
Infusión	433.810 ± 2.978	457.221 ± 5.789	365.558 ± 6.201	434.138 ± 4.197

Nota: Los datos que se muestran son la media de 6 réplicas y representan la media y ± SD.

La actividad inhibitoria del radical libre DPPH presente en *A. arborescens* fue de 79.915 ± 0.446% con 448.078 ± 2.537 µmol equivalente de Trolox/L y 77.408 ± 0.523% con 433.810 ± 2.978 µmol equivalente de Trolox/L para los extractos etanólico y acuoso respectivamente, con un ligero aumento de su capacidad antioxidante para la matriz hidroalcohólica. **Marín (2019)**, reportó en su investigación referente a la actividad antioxidante del aceite esencial *A. arborescens* una inhibición del 71.300%, similar a la obtenida experimentalmente.

En contraste, **Alvarado & Fuertes (2017)** obtuvo un 57.600% de captación de radicales libres al emplear una matriz metanólica para la misma especie, siendo menor a la obtenida en el presente estudio debido posiblemente al tipo de solvente empleado. Por otro lado, **Criollo (2015)**, presentó un 55.430% de inhibición para el caso del

extracto acuoso de *A. artemisiifolia* y **Amina et al. (2014)**, expuso un 62.040% de actividad en una matriz metanólica para la variedad *A. maritima*, siendo resultados inferiores a los expuestos por la especie de estudio, por lo que, se considera que *A. arborescens* posee una mayor cantidad de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante debido a la influencia de su entorno.

En el caso de *B. incana*, se obtuvo una inhibición del radical DPPH de $84.619 \pm 1.034\%$ con 474.837 ± 5.884 μmol equivalente de Trolox/L y $81.521 \pm 1.017\%$ con 457.221 ± 5.789 μmol equivalente de Trolox/L para el extracto etanólico y acuoso respectivamente. **Miranda (2019)**, reportó una inhibición DPPH de 67.582% en relación con la capacidad antioxidante de *B. incana* empleando una extracción en una fracción metanólica, lo cual es menor al obtenido experimentalmente en el presente estudio, posiblemente a causa del solvente empleado en la extracción.

Por otro lado, **Zamorano et al. (2020)** obtuvo un contenido equivalente de compuestos antioxidantes de 258.366 ± 1.558 μmol de Trolox/L al utilizar flores de *B. globosa*, presentándose una menor cantidad de componentes bioactivos antioxidantes para esta especie debido probablemente a las condiciones ambientales o a la sección de la planta utilizada con respecto a la de la presente investigación. Adicionalmente, **Adedapo et al., (2009)** obtuvo resultados similares a los propuestos en esta investigación e indicó una actividad de eliminación de radicales DPPH del 93.800% al emplear hojas de la variedad *B. saligna*, produciéndose esta elevada inhibición potencialmente a causa la cantidad de componentes activos en su composición.

Así también para *A. citrodora* el porcentaje de inhibición de DPPH fue de $70.957 \pm 0.712\%$ con 397.124 ± 4.052 μmol equivalente de Trolox/L para la extracción en fase etanólica y $65.408 \pm 1.090\%$ con 365.558 ± 6.201 μmol equivalente de Trolox/L para la extracción en base acuosa. Es evidente que el extracto obtenido mediante maceración presenta mayor inhibición del radical libre, por lo tanto, se puede destacar que presenta mayor actividad antioxidante con respecto al extracto obtenido mediante infusión. **Rodas & Jaramillo (2017)**, en un estudio sobre la capacidad antioxidante

de las hojas de *A. citrodora*, reportan un 63.900% de inhibición del radical DPPH para el extracto alcohólico, mientras que para el extracto acuoso obtuvo un 43% de inhibición. De esta forma concuerda con lo obtenido en el presente estudio al demostrar mayor actividad antioxidante en el extracto etanólico.

Por su parte, *P. serotina* exhibió porcentajes de inhibición del radical DPPH de $80.028 \pm 1.409\%$ con un contenido de 448.719 ± 8.014 μmol equivalente de Trolox/L para el extracto etanólico y $77.464 \pm 0.738\%$ con 434.138 ± 4.197 μmol equivalente de Trolox/L para el extracto acuoso. Así mismo, **Romero et al. (2021)** presenta un porcentaje de inhibición de 98.115% con 1011.182 μmol equivalente de Trolox/L en el extracto alcohólico de hojas de capulí siendo un valor superior al reportado en el presente estudio.

De igual manera, **Nowak et al. (2020)** presenta una actividad antioxidante de 85.800% del extracto de hojas de *P. domestica* utilizando etanol al 70% para la extracción y en el mismo estudio se evidencia una menor actividad al disminuir la concentración de etanol en la extracción. Acorde a la literatura existente, se ha encontrado que los estudios sobre la capacidad antioxidante de extractos de hojas capulí son limitados y así mismo existen escasos estudios sobre las hojas de especies de la misma familia.

La actividad antioxidante de las plantas esta principalmente asociada a los metabolitos presentes en las mismas, principalmente compuestos fenólicos y flavonoides (**Kumar et al., 2020**). Por lo que, la actividad antioxidante reportada en la **Tabla 9** concuerda con el contenido de fenoles y flavonoides presentados previamente en las **Tablas 7 y Tabla 8**, dado que, a mayor contenido de metabolitos, existió una mayor actividad antioxidante.

A la presencia de estos metabolitos se les asocia otros factores que influyen sobre la producción de ingredientes activos como el ecosistema, la cantidad de agua en el

ambiente, las características de suelo, la elevación, el aire, la luz solar, etc. (**Zargoosh et al., 2019**). Por ello, existe gran variabilidad entre los resultados reportados en la literatura y los hallazgos de esta investigación, dado que las condiciones a las que se encuentra al material antes de la recolección son distintas. Además, como menciona **Pisoschi et al. (2016)** la metodología de extracción es imprescindible para aprovechar el potencial bioactivo de las plantas. Es así como el método empleado por los autores sobre los cuales se contrastó podría haber interferido significativamente sobre los resultados.

En el **ANEXO F** se reportan los análisis de varianza ANOVA realizados para los extractos etanólicos y acuosos, donde se determinó individualmente la existencia de diferencias significativas en los promedios de los porcentajes de actividad antioxidante entre los extractos evaluados de cada planta, por lo que, al emplearse una prueba HSD Tukey a un nivel de confianza del 95% se estableció una mayor actividad antioxidante estadísticamente significativa en los extractos etanólicos con respecto a los acuosos para cada una de las especies vegetales.

Así mismo, al realizar una comparación entre las técnicas de maceración e infusión aplicadas para las distintas matrices vegetales, se presentó la mayor actividad antioxidante en el extracto de *B. incana* (Quishuar) tanto para base etanólica como para acuosa (**Figura 12 y Figura 13**).

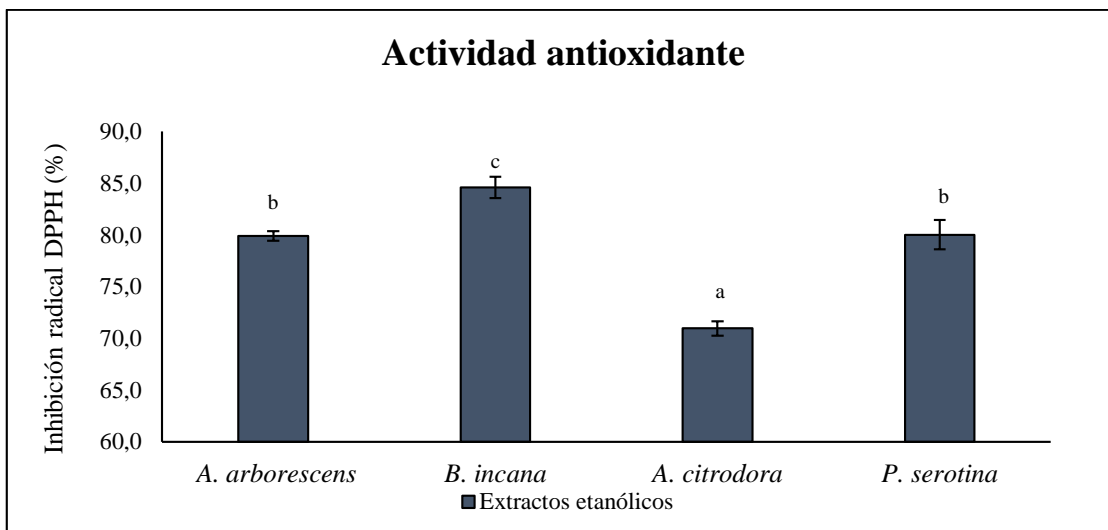


Figura 12. Actividad antioxidante presente en los extractos etanolicos de las cuatro especies vegetales.

Nota: Los datos que se muestran son la media de 6 réplicas y representan la media y \pm SD. Las letras diferentes (a, b, c, d) indican diferencias significativas. $\rho < 0.05$ ANOVA post hoc prueba de Tukey para los porcentajes de inhibición. Extractos etanólicos (Letra sin asterisco).

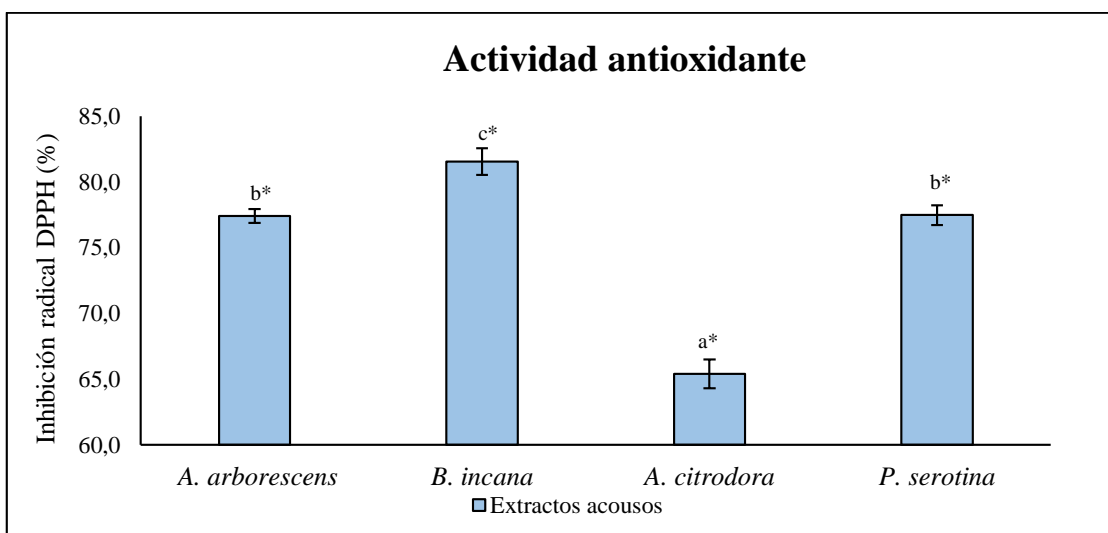


Figura 13. Actividad antioxidante presente en los extractos acuosos de las cuatro especies vegetales.

Nota: Los datos que se muestran son la media de 6 réplicas y representan la media y \pm SD. Las letras diferentes (a,b,c,d,e) indican diferencias significativas. $\rho < 0.05$ ANOVA post hoc prueba de Tukey para los porcentajes de inhibición.; Extractos acuosos (*).

Por otro lado, al realizar una comparación entre todos los tratamientos se determinó que los extractos de *A. arborescens* (Marco), *B. incana* (Quishuar) y *P. serotina* (Capulí) tanto etanólicos como acuosos presentaron una actividad antioxidante significativamente mayor respecto al control positivo (Trolox) a un nivel de confianza del 95%, siendo el extracto de *B. incana* etanólico el que posee la mayor capacidad antioxidante con relación a los demás extractos del estudio (**Figura 14**).

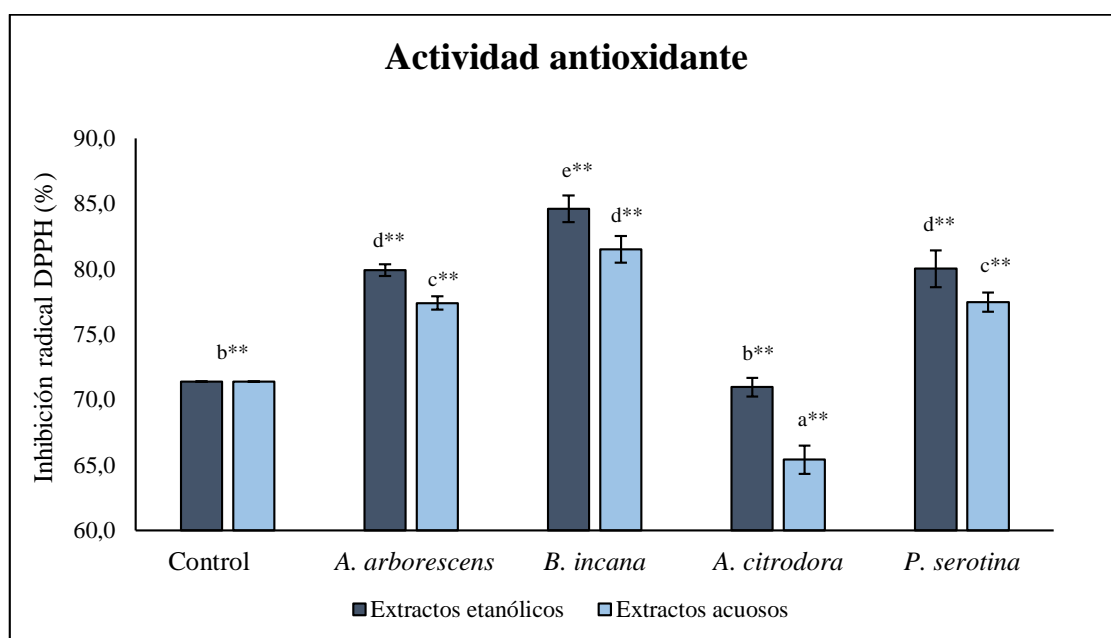


Figura 14. Actividad antioxidante presente en los dos tipos de extracto de las cuatro especies vegetales.

Nota: Los datos que se muestran son la media de 6 réplicas y representan la media y \pm SD. Las letras diferentes (a, b, c, d, e) indican diferencias significativas. $p < 0.05$ ANOVA post hoc prueba de Tukey para los porcentajes de inhibición. Todos los tratamientos (**)

3.1.4 Evaluación de la capacidad hipoglucémica

Las plantas medicinales poseen propiedades diversas, por lo que, su estudio en las últimas décadas ha incrementado y existen cada vez más investigaciones enfocados en caracterizar sus actividades biológicas (Khadayat et al., 2020). De entre las actividades que poseen los compuestos naturales se encuentran moléculas capaces de inhibir la actividad de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa (Tran et al., 2020).

La enzima α -amilasa es la responsable de hidrolizar el almidón en moléculas simples, facilitando el ingreso de la glucosa en la sangre, por lo que al inhibir la enzima se puede reducir la hiperglucemia postprandial en pacientes (Poovitha & Parani, 2016). Los bioactivos presentes en las matrices vegetales son capaces de inhibir la actividad de esta enzima por lo que, el ensayo de inhibición de α -amilasa se utilizó para determinar la actividad hipoglucemiante en los extractos vegetales al emplearse concentraciones entre 100 y 500 $\mu\text{g/mL}$.

Cabe recalcar que los compuestos bioactivos presentes en matrices vegetales actúan como inhibidores enzimáticos los cuales afectan de manera parcial o completa sobre actividad catalítica de la enzima, pero en el caso de α -amilasa, no se conoce con certeza el mecanismo de inhibición producida por los polifenoles (Ćorković et al., 2022). Se han encontrado diversas investigaciones enfocadas en la relación existente entre la reducción de la digestión del almidón producida por interacciones entre polifenoles y enzimas digestivas (Sun et al., 2020). Estos compuestos se dividen en ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos y estilbenos, siendo los flavonoides el grupo más relevante y extenso en esta categoría el cual incluye a los flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas y antocianinas (Ćorković et al., 2022).

Los extractos de *A. arborescens* (Marco) exhibieron una actividad inhibitoria del $41.195 \pm 1.411\%$ y del $48.954 \pm 1.558\%$ para la extracción acuosa y alcohólica respectivamente a 500 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 15). Existen numerosos estudios donde se evidencia la actividad inhibitoria de enzimas digestivas en especies de la familia Asteraceae, como es el caso del reportado por Kidane et al. (2018), donde se obtuvieron valores similares de inhibición enzimática del $37.500 \pm 3\%$ y $37.500 \pm 5\%$ para extractos realizados en cloroformo y agua destilada de la especie *Psiadia punctulata* perteneciente a la familia de estudio al utilizar la misma concentración de referencia (500 $\mu\text{g/mL}$).

Del mismo modo, Anjali & Rohit (2021) en su investigación presentó una inhibición del 46.190% en el extracto de *Artemisia pallens* perteneciente a la familia Asteraceae

a una concentración inferior a la utilizada, la cual fue del 312.500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, por lo que, se considera que esta actividad biológica se encuentra relacionada con los compuestos bioactivos presentes en la familia de estudio.

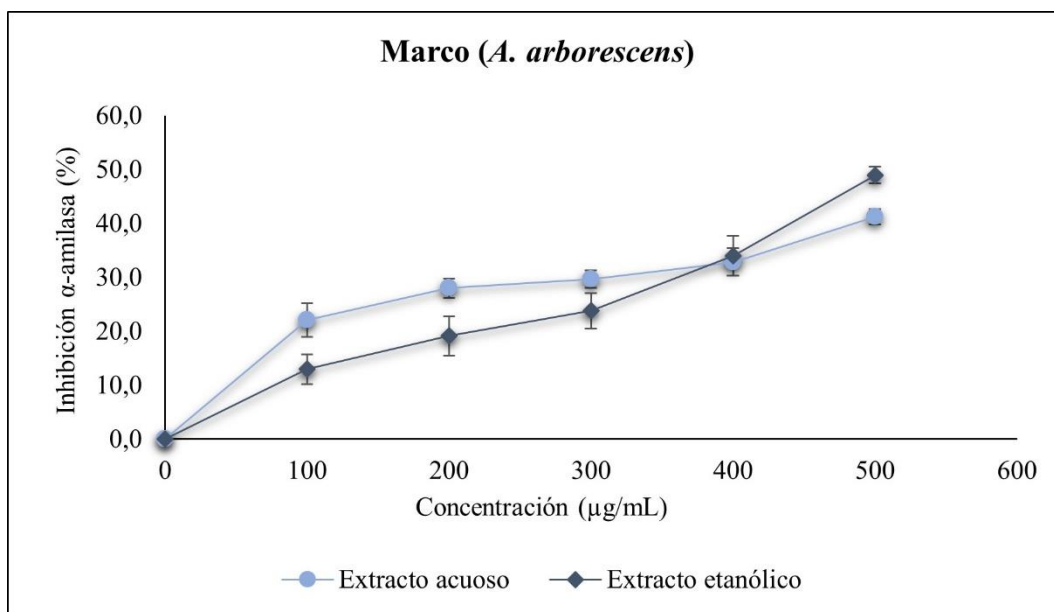


Figura 15. Inhibición enzimática de α -amilasa por los extractos de *A. arborescens*.

Para el caso de *B. incana* (Quishuar), se presentó una inhibición de la actividad biológica de α -amilasa del $34.917 \pm 1.317\%$ para la matriz acuosa y $41.015 \pm 1.721\%$ para el extracto hidroalcohólico a una concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (**Figura 16**), evidenciando un ligero aumento de actividad inhibitoria en el extracto etanólico. **Chemjong (2021)**, demostró que el extracto metanólico de *B. asiatica* exhibe una actividad inhibitoria del $23.738 \pm 3.69\%$ al utilizar una concentración similar al realizado en el presente estudio (625 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Por su parte, **Elhady et al. (2021)**, exhibió una inhibición enzimática del 50% para la variedad *B. indica* con una concentración menor de extracto obtenido en metanol absoluto (385.060 $\mu\text{g}/\text{mL}$), presentando una mayor inhibición en comparación a la especie utilizada. La variación en la actividad enzimática podría deberse a la incidencia factores externos que promuevan la producción de compuestos bioactivos

como el grado de maduración de las hojas, condiciones de cultivo o la especie empleada descritos previamente.

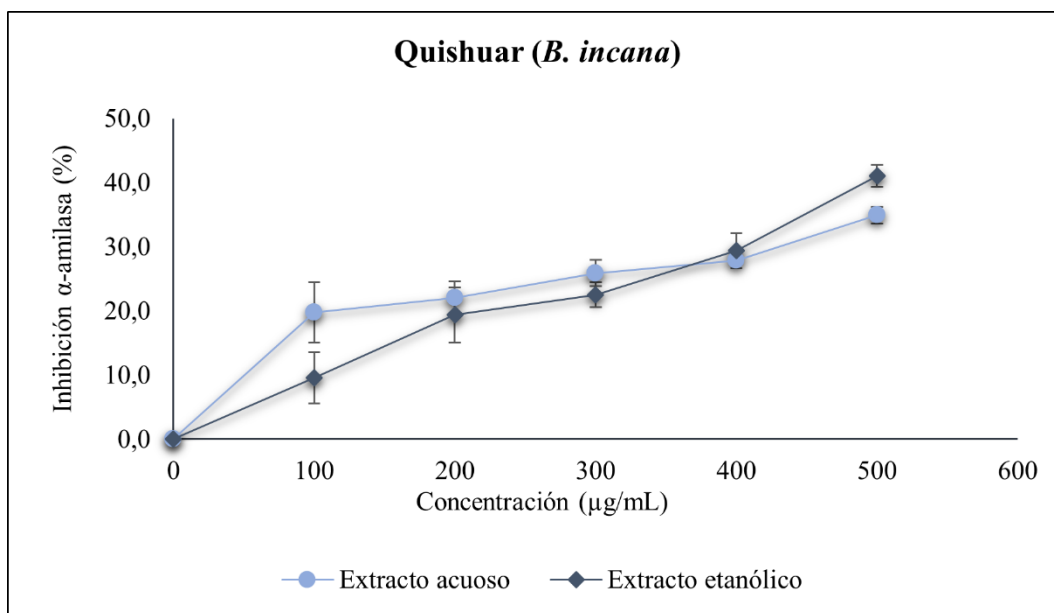


Figura 16. Inhibición enzimática de α -amilasa por los extractos de *B. incana*.

Por su parte, los extractos etanólico y acuoso de *A. citrodora* (Cedrón), exhibieron una actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa del $33.676 \pm 1.930\%$ y $26.940 \pm 1.727\%$ respectivamente utilizando una dosis de $500 \mu\text{g/mL}$ del extracto. Según lo observado en la **Figura 17** el valor superior lo alcanza el extracto etanólico a la dosis indicada. En el estudio realizado por **Ávila-Reyes et al. (2019)** en una comparativa de 10 especies vegetales de la familia Verbenaceae, encontró que *A. grattissima* posee un porcentaje de inhibición inferior al 40% a una dosis de 10 mg/mL siendo este resultado similar al de la presente investigación, únicamente *Verbena menthifolia* demostró actividad inhibitoria del 58.47% a dicha dosis.

Además, de las otras especies del género *Aloysia* se determinó que la inhibición es directamente proporcional a la concentración de extracto utilizada dado que al disminuir la concentración disminuye la actividad. Así también **Gamboa-Gómez et al. (2022)** exhibió una inhibición enzimática producida por *Lippia graveolens* del 50%

a una dosis de 25.2 mg/mL siendo esta una dosis superior a la utilizada en la investigación presente.

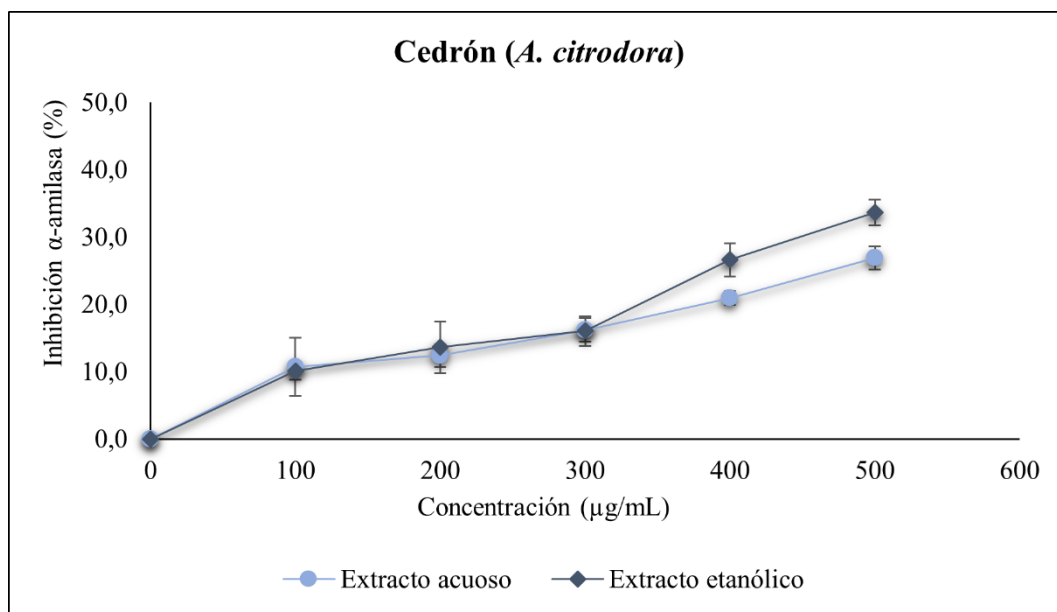


Figura 17. Inhibición enzimática de α -amilasa por los extractos de *A. citrodora*.

Con respecto a *P. serotina* (Capulí), mostró porcentajes de inhibición de $23.606 \pm 3.267\%$ y $19.353 \pm 0.804\%$ para los extractos etanólico y acuoso respectivamente. El porcentaje más elevado de inhibición enzimática se establece para el extracto en base etanólica (**Figura 18**). **Wojdylo & Nowicka (2021)** en su estudio, analizó la actividad enzimática del extracto etanólico en las hojas de la especie *P. armeniaca* de 3 localidades distintas, donde obtuvo resultados de inhibición del 50% a las dosis de 3.32, 7.52 y 7.23 mg/mL de extracto. Siendo estas dosis superiores a las utilizadas, por lo que se puede establecer que la concentración del extracto juega un papel fundamental para la inhibición de la enzima.

Así también **Ayele et al. (2021)** realizó el análisis de la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de hojas de *Rubus Erlanrige* que forma parte de la familia Rosaceae y demostró la inhibición del 50% de la actividad enzimática con una dosis

de 7.340 $\mu\text{g/mL}$ siendo esta una concentración mucho menor a la utilizada. Por otra parte, **Prakash & Sagar, (2019)** evaluaron la capacidad inhibitoria del extracto metanólico de hojas de *P. persica* donde se obtuvo una inhibición máxima de 75.080% y así mismo el extracto acuoso demostró actividad del 50%, en ambos casos cuando la dosis utilizada fue la de 1 mg/mL.

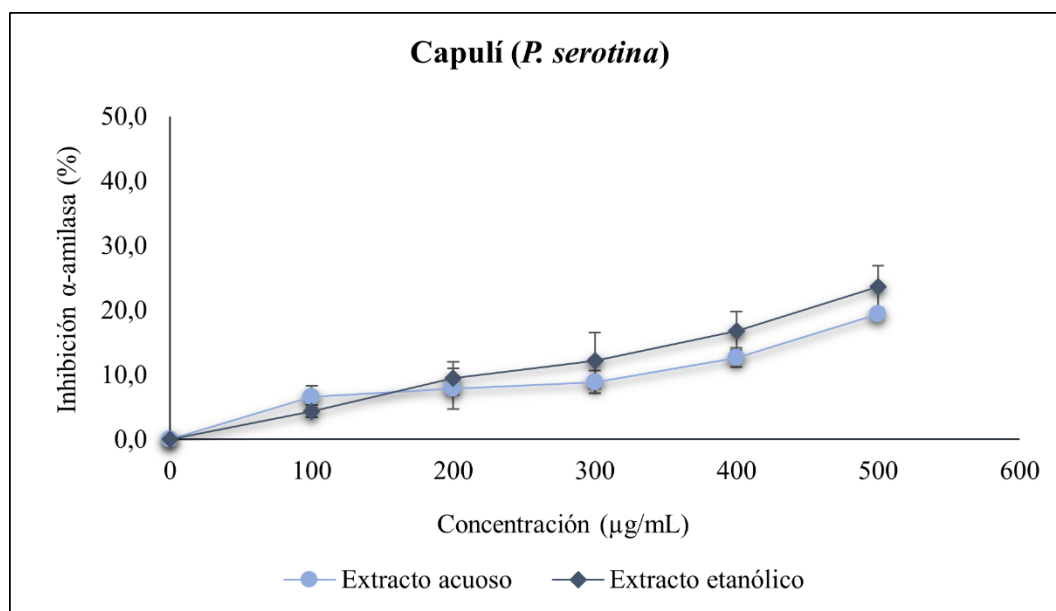


Figura 18. Inhibición enzimática de α -amilasa por los extractos de *P. serotina*.

Se considera que la inhibición de α -amilasa producida por los polifenoles podría deberse a la presencia de grupos hidroxilo en su estructura, capaces de formar uniones con las cadenas laterales de aminoácidos presentes en el sitio activo de la enzima, mediante enlaces de hidrógeno que generan un cambio conformacional que inactiva a la enzima (**Varghese & Mehrotra, 2020**).

Entre los compuestos químicos que presentan estas características se encuentran los taninos y las antocianinas, **Boath et al. (2012)** y **J. Xiao et al. (2013)**, determinaron que los elagitaninos y las proantocianidinas generan una inhibición competitiva de la enzima, pero depende del tipo de extracción realizada, dado que se pueden obtener composiciones distintas de polifenoles en cada caso. Por otro lado, **Kaeswurm et al.**

(2019), exhibió que los ácidos fenólicos como el ácido clorogénico presenta una inhibición no competitiva respecto a la α -amilasa, mientras que la malvidina (antocianina) presentó una inhibición competitiva, lo cual concuerda con los estudios previos.

Estos compuestos químicos o sus semejantes podrían encontrarse en los extractos vegetales de estudio en base a la caracterización fitoquímica realizada, sin embargo cada uno de los extractos puede poseer fracciones distintas de los metabolitos, de esta forma cada fracción de metabolitos será responsable de una distinta actividad, por lo cual no se puede relacionar directamente el contenido de metabolitos cuantificados con la actividad hipoglucemiante, sino más bien existirán fracciones específicas involucradas en la inhibición de las enzimas.

Según lo que se reporta en el **Anexo G**, se comparó la actividad enzimática a través de un análisis de varianza ANOVA seguido de la prueba HSD Tukey a un nivel de confianza del 95% para cada uno de los extractos a las diferentes concentraciones establecidas. Se observó que existieron diferencias significativas entre la actividad enzimática a las diferentes concentraciones analizadas. Además, los resultados revelaron que la mayor capacidad inhibitoria para cada matriz vegetal se presenta a la concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$ en los extractos etanólico y acuoso con respecto a las otras concentraciones, siendo esta la mejor dosis.

Por consiguiente, se realizó una comparación con la concentración que presentó una mayor actividad inhibitoria (500 $\mu\text{g/mL}$) para cada tipo de extracto (**Figura 19**) y (**Figura 20**) y se estableció que existieron diferencias significativas entre las especies en los extractos acuosos y etanólicos respectivamente. Además, se observó que la especie que mayor actividad inhibitoria exhibió fue *A. arborescens* (Marco) y la que menor actividad presentó fue *P. serotina* (Capulí) tanto para los extractos etanólicos como para los extractos acuosos.

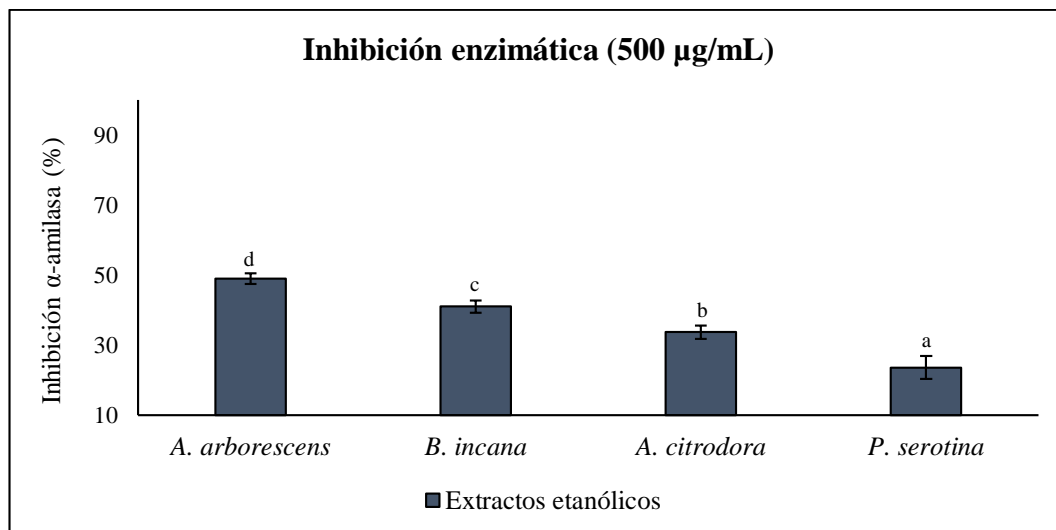


Figura 19. Inhibición enzimática de α -amilasa de los extractos etanólicos de las cuatro especies vegetales.

Nota: Los datos que se muestran son la media de 4 réplicas y representan la media y \pm SD. Las letras diferentes (a, b, c, d) indican diferencias significativas. $p < 0.05$ ANOVA post hoc prueba de Tukey para los porcentajes de inhibición. Extractos etanólicos (Letra sin asterisco).

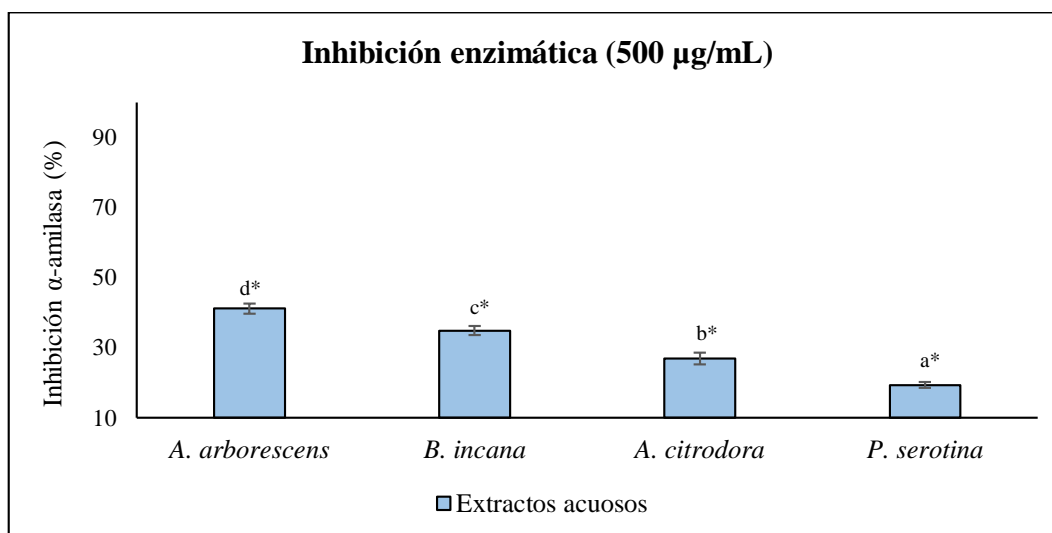


Figura 20. Inhibición enzimática de α -amilasa de los extractos acuosos de las cuatro especies vegetales.

Nota: Los datos que se muestran son la media de 4 réplicas y representan la media y \pm SD. Las letras diferentes (a, b, c, d) indican diferencias significativas. $p < 0.05$ ANOVA post hoc prueba de Tukey para los porcentajes de inhibición. Extractos acuosos (*)

Finalmente, al realizar una comparación entre todos los tratamientos (extracto acuoso y etanólicos) se estableció que el mejor fue el del extracto etanólico de *A. arborescens* (Marco) y este mismo presentó diferencias significativas en la actividad inhibitoria con respecto al extracto acuoso, siendo este un patrón repetitivo en las otras especies. Lo que sugiere que el método de extracción influye sobre la actividad enzimática. Cabe destacar que todos los tratamientos obtuvieron un menor porcentaje de inhibición con respecto al fármaco estándar Acarbosa (control positivo) a la dosis de 500 µg/mL reportado por **Murugesan et al. (2015)**. Estas comparaciones se pueden apreciar en la **Figura 21** donde se presenta un diagrama de barras con los porcentajes de inhibición de los extractos y un control positivo de referencia.

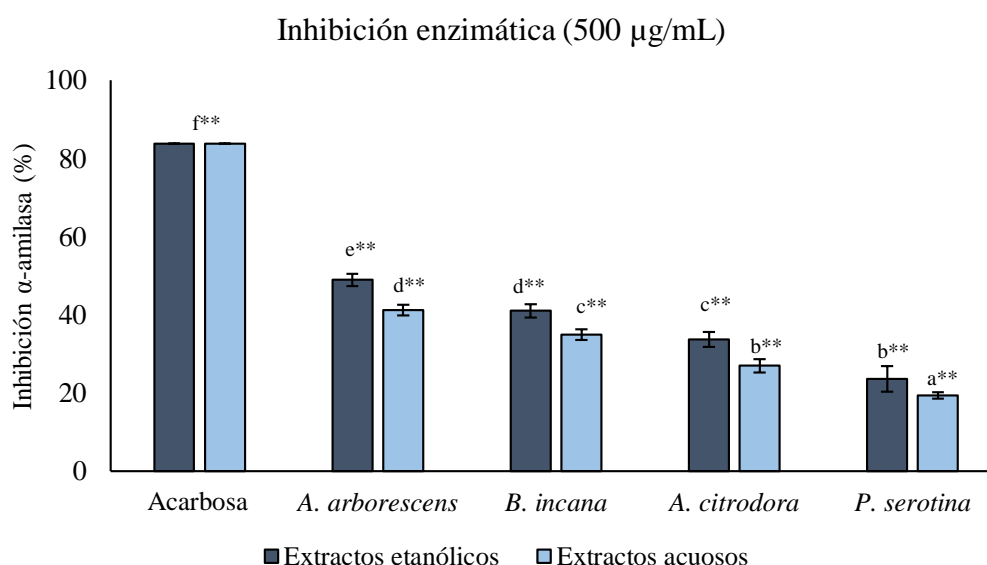


Figura 21. Inhibición enzimática de α -amilasa en los dos tipos de extracto de las cuatro especies vegetales.

Nota: Los datos que se muestran son la media de 4 réplicas y representan la media y \pm SD. Las letras diferentes (a, b, c, d, e, f) indican diferencias significativas. $p < 0.05$ ANOVA post hoc prueba de Tukey para los porcentajes de inhibición. Todos los tratamientos (**)

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se obtuvieron los extractos de las 4 especies vegetales mediante el método de maceración e infusión. El extracto de Marco presentó 10.3% de rendimiento para el extracto etanólico y 12.5% de rendimiento para el extracto acuoso. Para el caso del Quishuar se obtuvo 11.1% de rendimiento para el extracto etanólico, y 10.6% para el extracto acuoso. Por otra parte, el cedrón reveló 15.5% de rendimiento para la fase etanólica y 18.3% para la fase acuosa. Finalmente, el capulí presentó 17.2% de rendimiento para el extracto etanólico y 16.6% para el acuoso.
- Se determinó el perfil fitoquímico de las 4 especies vegetales, evidenciándose la presencia de saponinas, alcaloides, carbohidratos reductores, fenoles, triterpenos, diterpenos, taninos, flavonoides para los extractos de Marco, Quishuar, Cedrón y Capulí, mientras que las cumarinas y azúcares reductores se encontraron ausentes únicamente en el extracto de Marco. Por otro lado, quinonas y antocianidinas solo se presentaron en el caso del Capulí. Así mismo, se determinó el contenido de fenoles y flavonoides totales en todas las matrices vegetales, obteniéndose una mayor cantidad de compuestos bioactivos en los extractos realizados en base etanólica.
- Se analizó la actividad antioxidante presente en las matrices de Marco, Quishuar, Cedrón y Capulí, donde se exhibió la mayor actividad en los extractos realizados en base etanólica con valores expresados en inhibición del radical DPPH del 79.91%, 84.61%, 70.95% y 80.02% respectivamente, los cuales presentan una actividad semejante o mayor al Trolox empleado como control positivo. Los extractos tanto etanólicos como acuosos realizados presentaron una elevada actividad antioxidante, a causa de la elevada cantidad de metabolitos secundarios, destacando a los fenoles y flavonoides como principales responsables de esta actividad.

- Se determinó que los extractos de Marco, Quishuar, Cedrón y Capulí presentan la capacidad de inhibir la actividad de la enzima α -amilasa, debido en gran mayoría a los compuestos fenólicos, flavonoides y polisacáridos bioactivos presentes en su estructura. Se estableció que la dosis de 500 $\mu\text{g/mL}$ fue la que mejores porcentajes de inhibición produjo y los tratamientos que mayor actividad inhibitoria exhibieron fueron los extractos etanólicos de Marco con $48.953 \pm 1.558\%$ y el de Quishuar con $41.014 \pm 1.721\%$ siendo estos los mayores porcentajes de inhibición obtenidos.

4.2 Recomendaciones

- Aplicar cromatografía líquida HPLC y espectroscopia de masas por resonancia magnética nuclear para identificar con mayor precisión los compuestos bioactivos presentes en las matrices vegetales de estudio.
- Realizar un análisis de acoplamiento molecular para comprender las interacciones que existen entre los compuestos bioactivos y la enzima.
- Determinar la capacidad antioxidante en las especies vegetales de estudio empleando otros métodos de medición de la capacidad antioxidante como FRAP, ABTS, TRAP, entre otros.
- Emplear distintos solventes y una mayor variedad de métodos de extracción para aumentar el rendimiento y la cantidad de metabolitos secundarios obtenidos de la fuente vegetal.

MATERIAL DE REFERENCIA

- Abubakar, A., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 12(1), 1. DOI: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Adedapo, A., Jimoh, F., & Koduru, S. (2009). Assessment of the medicinal potentials of the methanol extracts of the leaves and stems of *Buddleja saligna*. *BMC Complement Altern Med*.
- Alhujaily, M., Dhifi, W., & Mnif, W. (2022). An Overview of the Potential of Medicinal Plants Used in the Development of Nutraceuticals for the Management of Diabetes Mellitus: Proposed Biological Mechanisms. *Processes*, 10(10), 2044. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr10102044>
- Alvarado, B., & Fuertes, C. (2017). Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*.
- Amaya, J. (2018). Estudio de la dosificación del almidón extraído del banano en un polímero de tipo termoplástico. *Química Aplicada y Analítica*.
- Amina, D., Magdi, M., Hassan, K., Bashier, O., Eltyeb, F., & Asaad, K. (2014). *In vitro* antioxidant activity and phytochemical profiles of three antitumor medicinal plants grown in Sudán. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(9), 136–142.
- Andino-Pilco, E. V. (2018). Evaluación de cuatro métodos de escarificación y dos sustratos para la obtención de plantulas de capulí (*Prunus serotina Ehrh*) en el cantón de Riobamba provincia de Chimborazo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Andramuño, D., Rojas, M. de los Á., & Grijalva, A. (2022). Estudio comparativo farmacognóstico y fitoquímico de las hojas de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y cedrón (*Lippia citriodora*). Universidad de Guayaquil.
- Anjali, K., & Rohit, K. (2021). Amylase Inhibitory Secondary Metabolites from *Artemisia pallens* Wall ex DC - Biochemical and Docking Studies. *Biology and Life Sciences Forum*.
- Ávila-Reyes, J. A., Almaraz-Abarca, N., Alvarado, E. A. D., Torres-Ricario, R., Naranjo-Jiménez, N., Gutierrez-Velazquez, M. V, González-Valdez, L. S., Uribe-Soto, J. N.,

- & Vasavilbazo-Saucedo, A. (2019). α -Glucosidase and α - amylase inhibition potentials of ten wild Mexican species of Verbenaceae. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 18(1), 31. DOI: <https://doi.org/10.4314/tjpr.v18i1.5>
- Ayele, A. G., Kumar, P., & Engidawork, E. (2021). Antihyperglycemic and hypoglycemic activities of the aqueous leaf extract of *Rubus Erlangeri* Engl (Rosacea) in mice. *Metabolism Open*, 11, 100118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.metop.2021.100118>
- Baek, S. H., Cao, L., Jeong, S. J., Kim, H.-R., Nam, T. J., & Lee, S. G. (2021). The Comparison of Total Phenolics, Total Antioxidant, and Anti-Tyrosinase Activities of Korean Sargassum Species. *Journal of Food Quality*, 2021, 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6640789>
- Bahramsoltani, R., Rostamiasrabadi, P., Shahpiri, Z., Marques, A. M., Rahimi, R., & Farzaei, M. H. (2018). *Aloysia citrodora* Paláu (Lemon verbena): A review of phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 222, 34–51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.04.021>
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R., & Chang, C. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4). DOI: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27041326>
- Benenaula, M. (2007). Yamare o Quishuar – Clasificación taxonómica de especies vegetales. *Universidad Politécnica Salesiana Del Ecuador*.
- Bermejo, A., Pereira, S., Cintra, M., & Morales, G. (2014). Determinación de parámetros químico- físico de las tinturas al 20% obtenidas de las hojas, tallos y frutos de *Melia azedarach* L (Pursiana). *Revista Habanera de Ciencias Médicas*.
- Bhatti, J., Bhatti, G., & Reddy, P. (2017). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders — A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1066–1077. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2016.11.010>
- Bhatti, J., Sehrawat, A., Mishra, J., Sidhu, I., Navik, U., Khullar, N., Kumar, S., Bhatti, G., & Reddy, P. (2022). Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives.

Free Radical Biology and Medicine, 184, 114–134. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2022.03.019>

Bitwell, C., Indra, S. Sen, Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19, e01585. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>

Boath, A., Grussu, D., & Stewart, D. (2012). Berry Polyphenols Inhibit Digestive Enzymes: a Source of Potential Health Benefits? *Food Dig.*

Bobo, G., Davidov, G., Arroqui, C., Vírseda, P., Marín, M., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204–209. DOI: <https://doi.org/10.1002/JSFA.6706>

Bolla, A. M., Caretto, A., Laurenzi, A., Scavini, M., & Piemonti, L. (2019). Low-Carb and Ketogenic Diets in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Nutrients*, 11(5). DOI: <https://doi.org/10.3390/nu11050962>

Cano, T. (2014). Caracterización de una espirolactona sesquiterpénica α -metilénica obtenida de *Ambrosia arborescens* Miller y evaluación de su actividad biológica en *Tripanosoma cruzi*. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 80(2), 124–135.

Carrasco-Baquero, J. C., Lema-Palaquibay, L. F., Caballero-Serrano, V. L., Acosta-Rivera, Á. G., Chávez-Velasquez, D. J., & Chávez-Velasquez, C. R. (2022). Producción y comercialización de capulí (*Prunus serotina* subsp. *capulí*): un caso de estudio en las zonas rurales de los Andes centrales del Ecuador. *Dialnet*, 8.

Carvajal, C. (2015). Productos finales de glicación (AGES) y la nefropatía diabética. *Medicina Legal de Costa Rica*.

Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N., & Rueda, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupata (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Revista Colombia Forestal*.

Centeno, Y., & Ulloa, A. (2021). Activación inmune por productos finales de glicación avanzada. *Colegio de Médicos y Cirujanos de Costa Rica*.

- Chamorro, J. (2020). Actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos preparados con diferentes solventes de las hojas de *Ambrosia arborescens* (Marco). *Universidad Central del Ecuador*.
- Chemjong, K. (2021). Study of α -amylase enzyme inhibition activity and antimicrobial activity of local tea *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, leaves of *Buddleja asiatica* Lour, and roots of *Polygala arillata* Buch.-Ham. ex D. Don. *Tribhuvan University*.
- Cheurfa, M., & Allem, R. (2016). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) d'Algérie in vitro. *Phytothérapie*, 14(3), 181–187. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0969-4>
- Chisaguano, L. (2012). Evaluación de la aplicación de tres productos inductores de brotación en capulí (*Prunus capuli*), comunidad Quilaló. Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Ćorković, I., Gašo-Sokač, D., Pichler, A., Šimunović, J., & Kopjar, M. (2022). Dietary Polyphenols as Natural Inhibitors of α -Amylase and α -Glucosidase. *Life*.
- Coronado, J., Carrasco, R., Reategui, O., Toscano, E., Valdez, E., Zimic, M., & Best, I. (2021). Inhibitory activity against α -amylase and α -glucosidase by phenolic compounds of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) from the Andean region of Peru. *Pharmacognosy Journal*, 13(4), 896–901. DOI: <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.115>
- Criollo, A. (2015). Determinación cuantitativa de polifenoles y metabolitos con propiedades antioxidantes en el extracto de altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*). *Universidad Técnica de Machala*.
- Dangkulwanich, M., Kongnithigarn, K., & Aurnoppakhun, N. (2018). Colorimetric Measurements of Amylase Activity: Improved Accuracy and Efficiency with a Smartphone. *Journal of Chemical Education*, 95(1), 141–145. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00468>
- de Paulo Farias, D., de Araújo, F. F., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2021). Antidiabetic potential of dietary polyphenols: A mechanistic review. *Food Research International*, 145, 110383. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110383>

- Elhady, S., Youssef, F., Alahdal, A., Almasri, D., & Ashour, M. (2021). Anti-Hyperglycaemic Evaluation of *Buddleia indica* Leaves Using In Vitro, In Vivo and In Silico Studies and Its Correlation with the Major Phytoconstituents. *Plants* .
- El-Hawary, S., Mousa, O., El-Fitiany, R., & El Gedaily, R. (2020). Cytotoxic, antimicrobial activities, and phytochemical investigation of three peach cultivars and acerola leaves. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 9(2), 221. DOI: https://doi.org/10.4103/jrptps.JRPTPS_88_19
- Emdin, C. A., Klarin, D., Natarajan, P., Consortium, C. E., Florez, J. C., Kathiresan, S., & Khera, A. V. (2017). Genetic Variation at the Sulfonylurea Receptor, Type 2 Diabetes, and Coronary Heart Disease. *Diabetes*, 66(8), 2310–2315. DOI: <https://doi.org/10.2337/db17-0149>
- Enriquez, P., Aguilar, P., Espín, L., Zambrano, A., & Vargas, C. (2020). Propagation in vitro of Quishuar (*Buddleja incana* Ruíz & Pav). *Granja*, 31(1), 74–84. DOI: <https://doi.org/10.17163/lgr.n31.2020.05>
- EuroStemCell. (2016). *Diabetes: ¿Cómo pueden ayudar las células madre?*
- Fernández, J. (2019). Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del extracto metanólico y acuoso de las hojas de *Ambrosia peruviana* all (Altamisa). *Universidad Católica Los Ángeles Chimbote*.
- Gallego, M. (2016). Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles. *Universidad politécnica de Cataluña*.
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *An Fac Med*, 77(4). DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v77i4.12647>
- Gamboa-Gómez, C. I., Denise-Herrera, M., Simental-Mendía, L. E., Zamilpa-Alvarez, A., González-Cortazar, M., Martínez-Aguilar, G., Alvarado-Aguilar, P., Morales-Castro, E. P., Ávila-Soto, J. A., Amador-Herrera, J. A., & Guerrero-Romero, F. (2022). Inhibitory effect of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) extracts on digestive enzymes in vitro, and beneficial impact on carbohydrates and lipids absorption in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 297, 115527. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115527>

- García, P., & López, G. (2007). Evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. *Nutrición Hospitalaria*.
- Genuth, S. M., Palmer, J. P., & Nathan, D. M. (2018). Classification and Diagnosis of Diabetes. In *Diabetes en América. 3ra edición*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK568014/>
- Gonelimali, F. D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M., & Hatab, S. R. (2018). Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 9. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01639>
- González, J. (2009). Técnicas de separación para el estudio de biosistemas en metabolitos de origen vegetal y contaminantes en tejidos dentales. *Universidad Autónoma de Barcelona*.
- Goyal, R., & Jialal, I. (2023, January). Diabetes Mellitus Type 2. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32568666/>
- Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sanchez, J. A., Apone, F., Abdel-Salam, E. M., Qahtan, A. A., Alatar, A. A., Cantini, C., Cai, G., Hausman, J.-F., Siddiqui, K. S., Hernández-Sotomayor, S. M. T., & Faisal, M. (2018). Production of Plant Secondary Metabolites: Examples, Tips and Suggestions for Biotechnologists. *Genes*, 9(6). DOI: <https://doi.org/10.3390/genes9060309>
- Guija, E., Amiel, J., Fukusaki, A., Reategui, O., Amiel, D., Enciso, J., Valdivia, E., Rodríguez, R., Neyra, K., & Enciso, N. (2009). Diferentes efectos sobre la proliferación de cultivos primarios de fibroblastos por extractos de *Buddleja incana*. *Universidad Científica Del Sur*.
- Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horiz Med Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición*.
- Gutiérrez, J., Pérez, J., Miranda, V., Mayanga, A., Tapia, S., & Domínguez, F. (2020). Uso etnomedicinal, fitoquímica y actividad biológica de la planta andina *Buddleja incana* Ruiz & Pav. (Scrophulariaceae). *Ethnobotany Research and Applications*, 20. DOI: <https://doi.org/10.32859/ERA.20.5.1-14>

- Haak, T., Gözl, S., Fritsche, A., Füchtenbusch, M., Siegmund, T., Schnellbächer, E., Klein, H. H., Uebel, T., & Droßel, D. (2019). Therapy of Type 1 Diabetes. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: Official Journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 127(S 01), S27–S38. DOI: <https://doi.org/10.1055/a-0984-5696>
- Heisler, E., Budo, M., Schimith, M., Badke, M., Ceolin, S., & Heck, R. (2015). Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña. *Enfermería Global*, 39, 390–403.
- Hossain, Md. M., Uddin, M. S., Baral, P. K., Ferdus, M., & Bhowmik, S. (2022). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Ipomoea hederifolia* stems: A potential medicinal plant. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 20(2). DOI: <https://doi.org/10.13057/biofar/f200201>
- Huamanteca, M., & Rodríguez, M. (2019). Efecto antiinflamatorio del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill (Marco) en ratas albinas. In *Universidad Interamericana*. Universidad Interamericana.
- Iglesias, D., & Pichucho, P. (2021). Desarrollo de un microencapsulado de cedrón (*Aloysia citrodora*), mediante secado por aspersión. *Universidad Técnica de Cotopaxi*.
- Insel, R. A., Dunne, J. L., Atkinson, M. A., Chiang, J. L., Dabelea, D., Gottlieb, P. A., Greenbaum, C. J., Herold, K. C., Krischer, J. P., Lernmark, Å., Ratner, R. E., Rewers, M. J., Schatz, D. A., Skyler, J. S., Sosenko, J. M., & Ziegler, A.-G. (2015). Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRF, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 38(10), 1964–1974. DOI: <https://doi.org/10.2337/dc15-1419>
- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 579–591. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
- Ji, X., Guo, J., Cao, T., Zhang, T., Liu, Y., & Yan, Y. (2023). Review on mechanisms and structure-activity relationship of hypoglycemic effects of polysaccharides from natural resources. *Food Science and Human Wellness*, 12(6), 1969–1980. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FSHW.2023.03.017>

- Kahn, S., Cooper, M., & Del Prato, S. (2014). Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *The Lancet*, 383(9922), 1068–1083. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62154-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62154-6)
- Kanaley, J. A., Colberg, S. R., Corcoran, M. H., Malin, S. K., Rodriguez, N. R., Crespo, C. J., Kirwan, J. P., & Zierath, J. R. (2022). Exercise/Physical Activity in Individuals with Type 2 Diabetes: A Consensus Statement from the American College of Sports Medicine. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 54(2), 353–368. DOI: <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002800>
- Karabegovic, I., Stojicevi, S., Velickovi, D., Todorovic, Z., Nikolic, N., & Lazic, M. (2014). The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Industrial Crops and Products*.
- Kaur, N., Kumar, V., Nayak, S. K., Wadhwa, P., Kaur, P., & Sahu, S. K. (2021). Alpha-amylase as molecular target for treatment of diabetes mellitus: A comprehensive review. *Chemical Biology & Drug Design*, 98(4), 539–560. DOI: <https://doi.org/10.1111/cbdd.13909>
- Kazan, A., Koyu, H., Turu, I. C., & Yesil-Celiktas, O. (2014). Supercritical fluid extraction of *Prunus persica* leaves and utilization possibilities as a source of phenolic compounds. *The Journal of Supercritical Fluids*, 92, 55–59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.05.006>
- Khadayat, K., Marasini, B. P., Gautam, H., Ghaju, S., & Parajuli, N. (2020). Evaluation of the alpha-amylase inhibitory activity of Nepalese medicinal plants used in the treatment of diabetes mellitus. *Clinical Phytoscience*, 6(1), 34. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40816-020-00179-8>
- Kidane, Y., Bokrezion, T., Mebrahtu, J., Berhane, Y., Fessehaye, N., & Okoth, O. (2018). In Vitro Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Extracts from *Psiadia punctulata* and *Meriandra bengalensis*. *Evid Based Complement Alternat Med*.
- Kovács, B., Hohmann, J., Csupor, B., Kiss, T., & Csupor, D. (2022). A comprehensive phytochemical and pharmacological review on sesquiterpenes from the genus *Ambrosia*. *Heliyon*, 8(7), e09884. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2022.E09884>

- Kumar, Y., Kumar, V., & Sangeeta. (2020). Comparative antioxidant capacity of plant leaves and herbs with their antioxidative potential in meat system under accelerated oxidation conditions. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(6), 3250–3262. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00571-5>
- Leahy, J., Hirsch, I., Peterson, K., & Schneider, D. (2010). Targeting β -Cell Function Early in the Course of Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(9), 4206–4216. DOI: <https://doi.org/10.1210/JC.2010-0668>
- Lebovitz, H. E. (2019). Thiazolidinediones: The Forgotten Diabetes Medications. *Current Diabetes Reports*, 19(12), 151. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1270-y>
- Leyva, M., Rodríguez, Y., Rodríguez, R., & Niño, S. (2020). Mecanismos moleculares de la secreción de la insulina. *Correo Científico Médico*.
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
- Lim, J., Ferruzzi, M. G., & Hamaker, B. R. (2022). Structural requirements of flavonoids for the selective inhibition of α -amylase versus α -glucosidase. *Food Chemistry*, 370, 130981. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130981>
- Liu, Y., Chen, V., He, J., Zheng, X., Xu, X., & Zhou, X. (2021). A salivary microbiome-based auxiliary diagnostic model for type 2 diabetes mellitus. *Archives of Oral Biology*, 126, 105118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105118>
- Llanga, B. (2014). Determinación de la actividad antioxidante de los extractos de Quishuar (*Buddleja incana*), Aliso (*Alnus acuminata*) y Romerillo (*Hypericum laricifolium*) localizados en 3 zonas geográficas diferentes *Escuela Superior Politécnica del Chimborazo*.
- Loja, L., & Morocho, J. (2018). *Ambrosia arborescens* Mill. *Herbario Azuay - Universidad Del Azuay*.

- López, T. (2008). Plantas medicinales. *Offarm*, 27(4), 82–87. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-plantas-medicinales-13120069>
- Los, E., & Wilt, A. S. (2023). *Diabetes Mellitus Type 1 In Children*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441918/>
- Lu, X., & Zhao, C. (2020). *Exercise and Type 1 Diabetes* (pp. 107–121). DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-15-1792-1_7
- Lucier, J., & Weinstock, R. S. (2023). Diabetes Mellitus Type 1. In *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441918/>
- Marín, J. (2019). Composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* Miller (Marku). *Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco*.
- Martín, D. (2018). Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*.
- Martino, V., & Sulsen, V. (2019). Lactona sesquitérpenicas promisorio grupo de compuestos naturales bioactivos. *Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica*.
- Miranda, V. (2019). Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria in vitro del extracto metanólico de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum*. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*.
- Moncayo Contreras, O. R. (2017). Análisis de la diversidad genética del capulí (*Prunus Serotina*), en la región andina del Ecuador, utilizando marcadores moleculares AFLP Universidad San Francisco de Quito.
- Murugesan, P., Bhuvanewari, S., & Thennarasan, S. (2015). In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibition activity of methanolic extract of marine brown alga *Spatoglossum asperum*. *International Journal Advances in Pharmaceutics*, 4(5).
- N'guessan, B., Asiamah, A., Arthur, N., Frimpong-Manso, S., Amoateng, P., Amponsah, S., Kukuia, K., Sarkodie, J., Opuni, K., Asiedu-Gyekye, I., & Appiah-Opong, R. (2021). Ethanolic extract of *Nymphaea lotus* L. (Nymphaeaceae) leaves exhibits in vitro antioxidant, in vivo anti-inflammatory and cytotoxic activities on Jurkat and

- MCF-7 cancer cell lines. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 22. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03195-w>
- Nowak, A., Szatan, D., Zielonka-Brzezicka, J., Florkowska, K., Muzykiewicz, A., & Klimowicz, A. (2020). Antioxidant activity of selected parts of *Prunus domestica* L. harvested at two ripening stages. *Pomeranian Journal of Life Sciences*, 66(2), 65–69. DOI: <https://doi.org/10.21164/pomjlifesci.591>
- Ogunyemi, O. M., Gyebi, G. A., Saheed, A., Paul, J., Nwaneri-Chidozie, V., Olorundare, O., Adebayo, J., Koketsu, M., Aljarba, N., Alkahtani, S., Batiha, G. E.-S., & Olaiya, C. O. (2022). Inhibition mechanism of alpha-amylase, a diabetes target, by a steroidal pregnane and pregnane glycosides derived from *Gongronema latifolium* Benth. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.866719>
- Olivares, R., & Arellano, P. (2008). *Bases moleculares de las acciones de la insulina*. 9–18. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2008/reb081c.pdf>
- Ortíz-Martínez, D. M., Cordero-Pérez, P., & Leos-Rivas, C. (2016). Actividad antidiabética. In *Investigación en plantas de importancia médica* (pp. 215–268). OmniaScience. DOI: <https://doi.org/10.3926/oms.342>
- Osorio-Tobón, J. F. (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 57(12), 4299–4315. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04433-2>
- Padhi, S., Nayak, A. K., & Behera, A. (2020). Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110708. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110708>
- Panchi, P., Cristian, S., & Caevallos, E. (2020). Estudio del perfil fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreo y acuoso del cedrón (*Aloysia citrodora* Palau) *Universidad Técnica de Cotopaxi*.
- Pascual, D., Pérez, Y., Morales, I., Castellanos, I., & González, E. (2014). Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. *MEDISAN*, 18(10), 1467–1474.

- Paucar Cuba, K., Tufinio Miranda, K., Ames Canchaya, H., Vergara Sotomayor, A., & Fukusaki Yoshizawa, A. (2021). Determinación de la actividad antioxidante de extractos de hojas de *Buddleja inkana*, *Oreocallis grandiflora* y *Chuquiraga spinosa*. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 87(2), 107–119. DOI: <https://doi.org/10.37761/rsqp.v87i2.343>
- Peñaranda, O., Perilla, J., & Algecira, N. (2008). Revisión de la modificación química del almidón con ácidos orgánicos. *Ingeniería e Investigación*.
- Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31, 68–81.
- Peralta, M., & Volke, T. (2012). La defensa antioxidante en las plantas: Una herramienta clave para la fitorremediación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*.
- Pfeiffer, A. F. H., & Klein, H. H. (2014). The treatment of type 2 diabetes. *Deutsches Arzteblatt International*, 111(5), 69–81; quiz 82. DOI: <https://doi.org/10.3238/arztebl.2014.0069>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016). Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–36. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/9130976>
- Pitt, J. P., McCarthy, O. M., Hoeg-Jensen, T., Wellman, B. M., & Bracken, R. M. (2020). Factors Influencing Insulin Absorption Around Exercise in Type 1 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology*, 11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.573275>
- Ponce, J., Rodriguez, N., & Juárez, R. (2018). Inhibición de la α -amilasa por medio de extractos de plantas medicinales como tratamiento complementario/alternativo de la diabetes y la caries. *Revista de La Sociedad Odontológica de La Plata*.
- Poovitha, S., & Parani, M. (2016). In vitro and in vivo α -amylase and α -glucosidase inhibiting activities of the protein extracts from two varieties of bitter melon (*Momordica charantia* L.). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(S1), 185. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1085-1>
- Prakash, V., & Sagar, A. (2019). Alpha-Amylase and Urease Inhibitory Activity of Leaf Extracts of *Prunus persica* (L.) Batsch. *Bulletin of Pure & Applied Sciences- Botany*, 38b(2), 74. DOI: <https://doi.org/10.5958/2320-3196.2019.00010.7>

- Pujol Garcia, A., Tamargo, B., Salas, E., Calzadilla, C., Acevedo, R., & Acevedo, G. (2020). Phytochemical screening of extracts obtained from the *Sapindus saponaria* L plant that grows in Cuba. <http://revistabionatura.com/files/2020.05.03.7.pdf>
- Quishpe, K. (2018). Evaluación de la actividad insecticida del extracto acuoso y alcoholico de ruda (*Ruta graveolens*), marco (*Ambrosia arborescens Mill.*), chilca (*Baccharis latifolia*), romero (*Rosmarinus officinalis*), utilizados para controlar el pulgón (*Brevicoryne brassica*). *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*.
- Rahman, Md. M., Dhar, P. S., Sumaia, Anika, F., Ahmed, L., Islam, Md. R., Sultana, N. A., Cavalu, S., Pop, O., & Rauf, A. (2022). Exploring the plant-derived bioactive substances as antidiabetic agent: An extensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 152, 113217. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113217>
- Rains, J., & Jain, S. (2011). Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, 50(5), 567–575. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2010.12.006>
- Rashid, H. M., Mahmood, A. I., Afifi, F. U., & Talib, W. H. (2022). Antioxidant and antiproliferation activities of lemon verbena (*Aloysia citrodora*): An in vitro and in vivo study. *Plants*, 11(6), 785. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11060785>
- Rashid, S., Majeed, L., Nisar, B., Nisar, H., Bhat, A., & Ganai, B. (2021). Phytomedicines: Diversity, extraction, and conservation strategies. *Phytomedicine: A Treasure of Pharmacologically Active Products from Plants*, 1–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824109-7.00009-1>
- RCSB PDB. (2023). *Human Salivary Amylase*. <https://www.rcsb.org/structure/1SMD>
- Roberts, C., & Sindhu, K. (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, 84(21–22), 705–712. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2009.02.026>
- Rodas, E., & Jaramillo, M. (2017). Actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* cedrón y *Mellissa officinallis* toronjil. Universidad Alas Peruanas. <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/3104006>

- Rojas Molina, J. O., Trávez Castellano, A. M., & Cevallos Carvajal, E. R. (2022). Extracción hidroalcohólica de polifenoles a partir de las hojas de cedrón (*Aloysia citrodora* Paláu), como ingrediente alimentario natural. *Renpys*, 1(2), 56–69.
- Romero, M., Ticona, S., & Montachéz, E. (2021). Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante del extracto alcohólico de las hojas de *Prunus serotina* Ehrh (*capulí*) Universidad María Auxiliadora.
- Rudas, D. (2017). Composición química, fraccionamiento y actividad in vitro del aceite esencial de *Aloysia citriodora* Palau (“Cedrón”) sobre las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.
- Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants MDPI*, 9(8), 1–39. DOI: <https://doi.org/10.3390/ANTIOX9080709>
- Salles, B. C. C., da Silva, M. A., Taniguthi, L., Ferreira, J. N., da Rocha, C. Q., Vilegas, W., Dias, P. H., Pennacchi, P. C., Duarte, S. M. da S., Rodrigues, M. R., Brigagão, M. R. P. L., & Paula, F. B. de A. (2020). *Passiflora edulis* Leaf Extract: Evidence of Antidiabetic and Antiplatelet Effects in Rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 43(1), 169–174. DOI: <https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00952>
- Sampath Kumar, A., Maiya, A. G., Shastry, B. A., Vaishali, K., Ravishankar, N., Hazari, A., Gundmi, S., & Jadhav, R. (2019). Exercise and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, 62(2), 98–103. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rehab.2018.11.001>
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. DOI: <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Soto, M., & Rosales, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 18(4), 701–714. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061>

- Sun, C., Zhao, C., Guven, E., Paoli, P., Simal, J., Mohamram, K., Wang, S., Buleu, F., Pah, A., Turi, V., Damian, G., Dragan, S., Tomas, M., Khan, W., Wang, M., Delmas, D., Portillo, M., Dar, P., Chen, L., & Xiao, J. (2020). Dietary polyphenols as antidiabetic agents: Advances and opportunities. *Food Frontiers*.
- Tafesse, T. B., Hymete, A., Mekonnen, Y., & Tadesse, M. (2017). Antidiabetic activity and phytochemical screening of extracts of the leaves of *Ajuga remota* Benth on alloxan-induced diabetic mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *17*(1), 243. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1757-5>
- Tammar, S., Salem, N., Aidi Wannas, W., Limam, H., Bourgou, S., Fares, N., Dakhlaoui, S., Hammami, M., Khammassi, S., Re, G. Del, Hessini, K., & Msaada, K. (2021). Chemometric Profiling and Bioactivity of Verbena (*Aloysia citrodora*) Methanolic Extract from Four Localities in Tunisia. *Foods*, *10*(12), 2912. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10122912>
- Tan, S. Y., Mei Wong, J. L., Sim, Y. J., Wong, S. S., Mohamed Elhassan, S. A., Tan, S. H., Ling Lim, G. P., Rong Tay, N. W., Annan, N. C., Bhattamisra, S. K., & Candasamy, M. (2019). Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, *13*(1), 364–372. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.10.008>
- Telichowska, A., Kobus-Cisowska, J., & Szulc, P. (2020). Phytopharmacological Possibilities of Bird Cherry *Prunus padus* L. and *Prunus serotina* L. Species and Their Bioactive Phytochemicals. *Nutrients*, *12*(7), 1966. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12071966>
- Tran, N., Pham, B., & Le, L. (2020). Bioactive Compounds in Anti-Diabetic Plants: From Herbal Medicine to Modern Drug Discovery. *Biology*, *9*(9), 252. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology9090252>
- Urrego, N., Sepúlveda, P., Aragón, M., Ramos, F. A., Costa, G. M., Ospina, L. F., & Castellanos, L. (2021). Flavonoids and saponins from *Passiflora edulis* f. *edulis* leaves (purple passion fruit) and its potential anti-inflammatory activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *73*(11), 1530–1538. DOI: <https://doi.org/10.1093/jpp/rgab117>

- Valdez López, L. L., Gutiérrez Gaitén, Y. I., García Mir, V., & Nieto Acosta, O. M. (2022). Characterization of the Extractive Process by Maceration by Means of a Fractional Factorial Design in *Nephelium Lappaceum* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 55(3), 1–17. <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/738/491>
- Varghese, L. N., & Mehrotra, N. (2020). α -Amylase inhibitory activity of microencapsulated *Nigella sativa* L. and herb- drug interaction: An in vitro analysis. *Annals of Phytomedicine: An International Journal*, 9(1). DOI: <https://doi.org/10.21276/ap.2020.9.1.12>
- Vijayaraghavan, P., Raj, S. R. F., & Vincent, S. G. P. (2016). Industrial Enzymes. In *Agro-Industrial Wastes as Feedstock for Enzyme Production* (pp. 95–110). Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802392-1.00004-6>
- Villarroel, P., Gómez, C., Vera, C., & Torres, J. (2018). Almidón resistente: Características tecnológicas e intereses fisiológicos. *Revista Chilena de Nutrición*.
- Warshauer, J. T., Bluestone, J. A., & Anderson, M. S. (2020). New Frontiers in the Treatment of Type 1 Diabetes. *Cell Metabolism*, 31(1), 46–61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.11.017>
- Wojdylo, A., & Nowicka, P. (2021). Profile of Phenolic Compounds of *Prunus armeniaca* L. Leaf Extract Determined by LC-ESI-QTOF-MS/MS and Their Antioxidant, Anti-Diabetic, Anti-Cholinesterase, and Anti-Inflammatory Potency. *Antioxidants*, 10(12), 1869. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10121869>
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60–69. DOI: <https://doi.org/10.1002/FFT2.10>
- Xiao, J., Ni, X., Kai, G., & Chen, X. (2013). A Review on Structure–Activity Relationship of Dietary Polyphenols Inhibiting α -Amylase. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Xie, J., Jin, M., Morris, G., Zha, X., Chen, H., Yi, Y., Li, J., Wang, Z., Gao, J., Nie, S., Shang, P., & Xie, M. (2016). Advances on Bioactive Polysaccharides from Medicinal Plants. *Dietary Phytochemicals: Nutrition and Health*, 56, S60–S84. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1069255>

- Yang, L., Wen, K.-S., Ruan, X., Zhao, Y.-X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*, 23(4), 762. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- Yungán, D. (2019). *Formulación y control de calidad de un fotoprotector a base de cedrón (Aloysia triphylla)* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <https://core.ac.uk/download/pdf/234593179.pdf>
- Zahid, K. (2019). Comparative Evaluation of Total Phenolics, Total Flavonoids Content and Antiradical Activity in Six Selected Species of Family Rosaceae Using Spectroscopic Method. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 3(4), 352–357. DOI: <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2019.03.000693>
- Zamorano, P., Morales, M., Rivillas, Y., & López, J. (2020). Antioxidant activity and cytotoxic effect of Chilean *Buddleja globosa* (Matico) and *Ribes magellanicum* (Zarzaparrilla) flower extracts. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 59–70.
- Zárate, W., González, S., Ramírez, F., Robledo, A., & Juárez, A. (2021). Efecto de los ácidos fenólicos en el sistema antioxidante de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Agronomía Mesoamericana*.
- Zargoosh, Z., Ghavam, M., Bacchetta, G., & Tavili, A. (2019). Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss. *Scientific Reports*, 9(1), 16021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52605-8>
- Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1), 20. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

ANEXOS

Anexo A. Autorización de recolección sin fines comerciales del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica.



GUILLERMO LASSO
PRESIDENTE

PRONUNCIAMIENTO FAVORABLE No. MAATE-ARSFC-2022-2801

Sr. **CUNALATA LASCANO ERICK BLADIMIR,**

Una vez que la propuesta para Autorización de Recolección de Especímenes de la Diversidad Biológica Sin Fines Comerciales para Investigación Científica, ha sido analizada, el Ministerio del Ambiente y Agua en uso de las atribuciones que le confiere el Acuerdo Interministerial SENESCYT-MAE N°001 aprueba el Proyecto **Evaluación in vitro de la actividad antioxidante e hipoglicémica de extractos de plantas medicinales andinas.**, al haber cumplido con los parámetros técnicos, administrativos y legales, establecidas en la ley.

Por lo dispuesto, se solicita realizar el pago correspondiente en:

BANECUADOR

RUC MAATE: 1768192860001

CUENTA CTE. No. 3001480604 / SUB-LÍNEA: 190499

TIPOS DE SERVICIOS: Servicios de Áreas Protegidas y Vida Silvestre

En base a lo dispuesto en el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria.

Atentamente,

LAGLA CHIMBA BYRON ADRIAN

DIRECCIÓN DE BIODIVERSIDAD

Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica

Dirección: Calle Madrid 1159 y Andalucía

Código postal: 170525 / Quito-Ecuador

Teléfono: +593-2 398 7600

www.ambiente.gob.ec



Anexo B. Preparación de los extractos

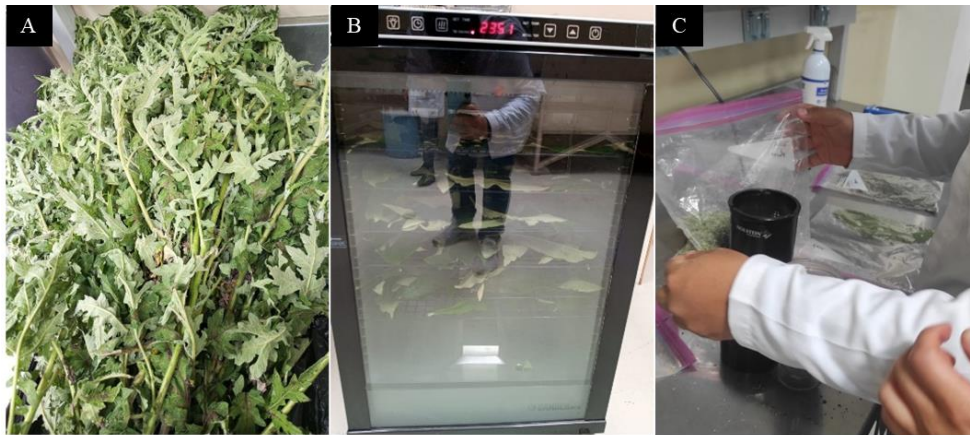


Figura 22. A: Desinfección B: Secado C: Triturado del material vegetal.

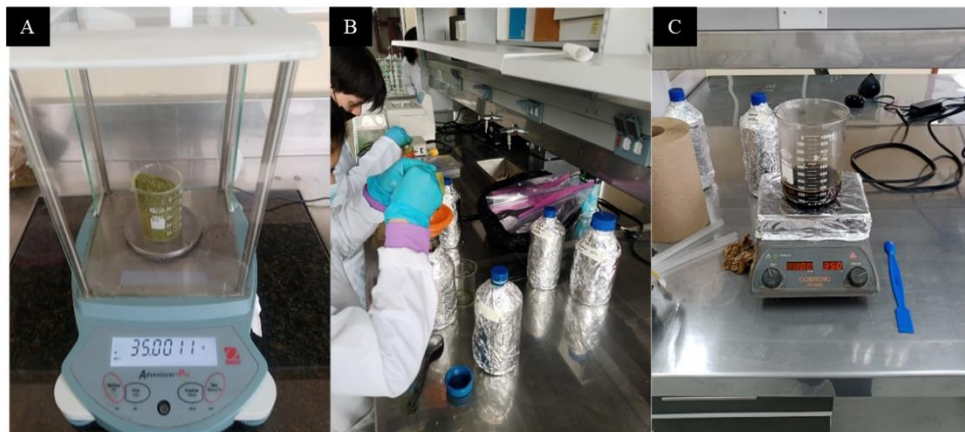


Figura 23. A: Pesaje del material vegetal B: Maceración. C: Infusión.



Figura 24. Eliminación de solvente mediante evaporación al vacío.

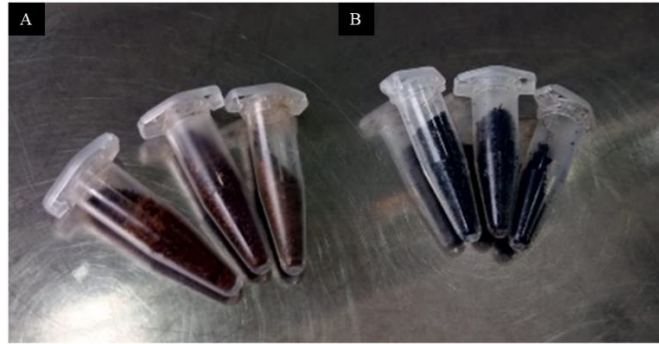


Figura 25. Resultado de la extracción A: Maceración B: Infusión.

Anexo C. Determinación de metabolitos secundarios



Figura 26. Pruebas de tamizaje fitoquímico.

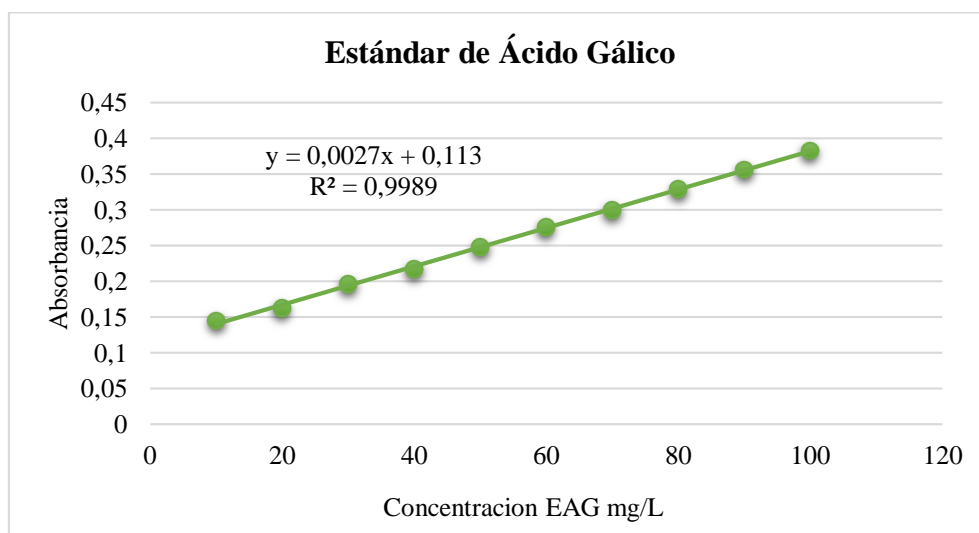


Figura 27. Curva de calibración de Ácido Gálico.

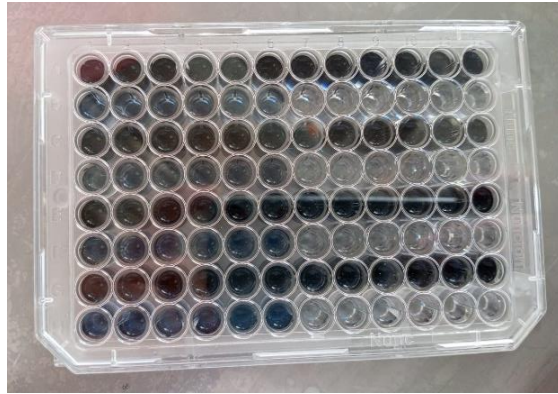


Figura 28. Determinación de fenoles totales.

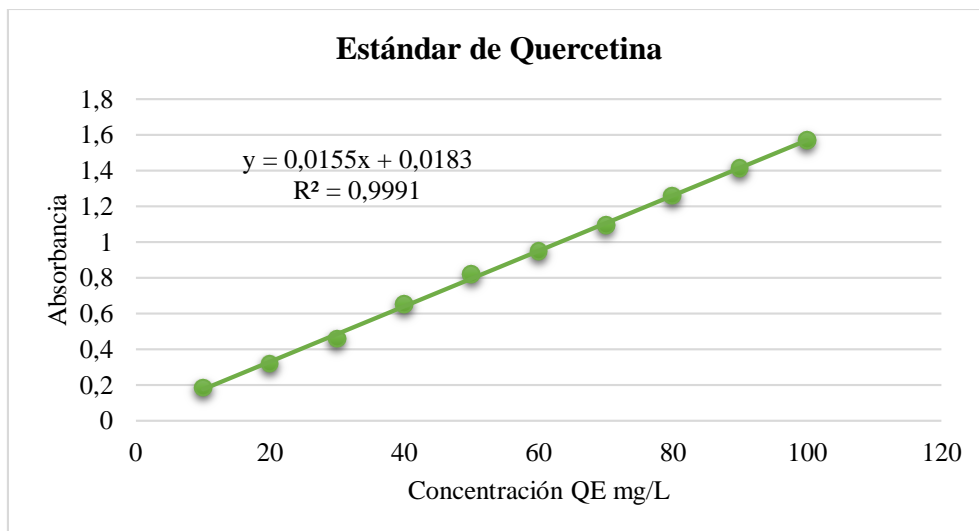


Figura 29. Curva de calibración de Quercetina

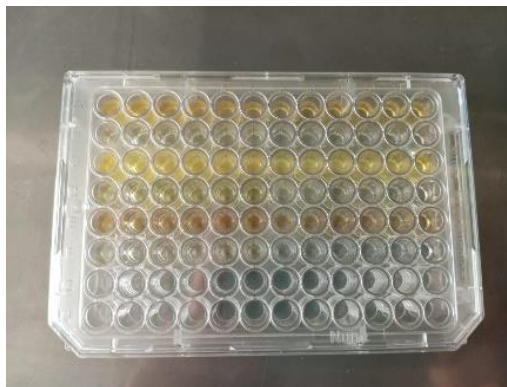


Figura 30. Determinación de flavonoides totales

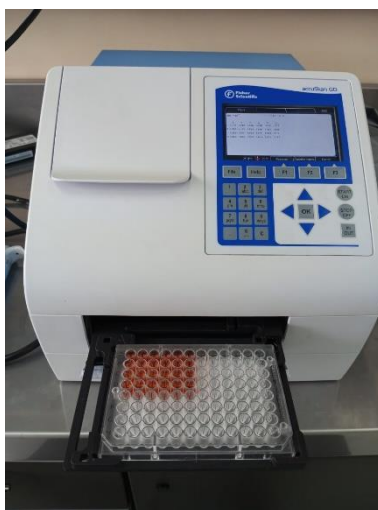


Figura 31. Uso de espectrofotómetro para lectura en placa.

Anexo D. Análisis de la capacidad antioxidante



Figura 32. Preparación del reactivo DPPH

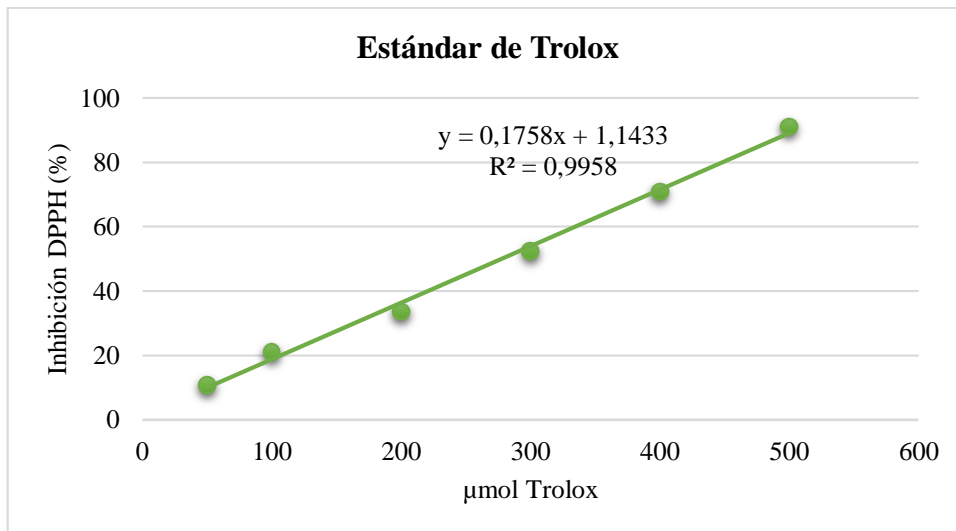


Figura 33. Curva calibración Trolox

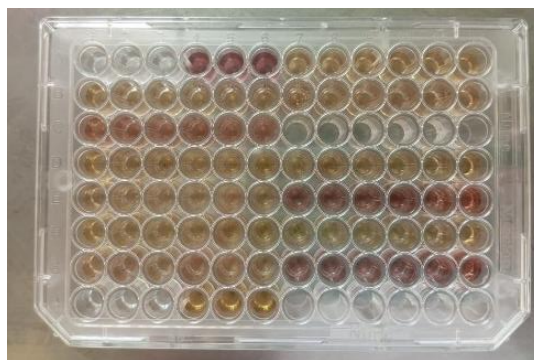


Figura 34. Placa de 96 pocillos método DPPH.

Anexo E. Determinación de la actividad enzimática.

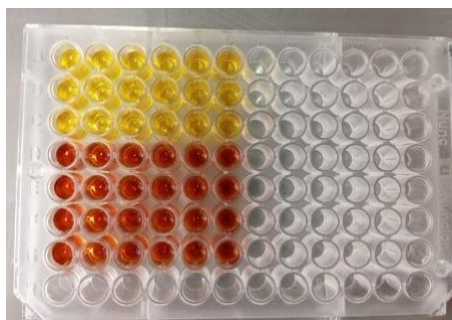


Figura 35. Placa de 96 pocillos método DNS.

Anexo F. Análisis estadístico de la capacidad antioxidante

Marco (*Ambrosía arborescens*)

ANOVA Simple - Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

Variable dependiente: Inhibición DPPH (%)

Factor: Tipo de Extracto

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 2

Tabla ANOVA para Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	18.8558	1	18.8558	79.69	0.0000
Intra grupos	2.3662	10	0.23662		
Total (Corr.)	21.222	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

Método: 95.0 % Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Acuoso	6	77.4085	A
Etanólico	6	79.9155	B

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Quishuar (*Buddleja incana*)

ANOVA Simple - Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

Variable dependiente: Inhibición DPPH (%)

Factor: Tipo de Extracto

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 2

Tabla ANOVA para Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	28.8038	1	28.8038	27.35	0.0004
Intra grupos	10.5312	10	1.05312		
Total (Corr.)	39.3351	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

Método: 95.0 % Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Acuoso	6	81.5211	A
Etanólico	6	84.6197	B

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Cedrón (*Aloysia Citrodora*)**ANOVA Simple - Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto**

Variable dependiente: Inhibición DPPH (%)

Factor: Tipo de Extracto

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 2

Tabla ANOVA para Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	92.3841	1	92.3841	108.95	0.0000
Intra grupos	8.47927	10	0.847927		
Total (Corr.)	100.863	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

Método: 95.0 % Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Acuoso	6	65.4085	A
Etanólico	6	70.9577	B

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Capulí (*Prunus serotina*)

ANOVA Simple - Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

Variable dependiente: Inhibición DPPH (%)

Factor: Tipo de Extracto

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 2

Tabla ANOVA para Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	19.7128	1	19.7128	15.58	0.0027
Intra grupos	12.6499	10	1.26499		
Total (Corr.)	32.3626	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Inhibición DPPH (%) por Tipo de Extracto

Método: 95.0 % Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Acuoso	6	77.4648	A
Etanólico	6	80.0282	B

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Comparación de la capacidad antioxidante entre todas las especies vegetales en base etanólica

Comparación de Varias Muestras

Muestra 1: Marco Etanólico

Muestra 2: Quishuar Etanólico

Muestra 3: Cedrón Etanólico

Muestra 4: Capulí Etanólico

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	588.582	3	196.194	208.60	0.0000
Intra grupos	18.8106	20	0.940528		
Total (Corr.)	607.393	23			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 % Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Cedrón Etanólico	6	70.9577	A
Marco Etanólico	6	79.9155	B
Capulí Etanólico	6	80.0282	B
Quishuar Etanólico	6	84.6197	C

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Comparación de la capacidad antioxidante entre todas las especies vegetales en base acuosa

Comparación de Varias Muestras

Muestra 1: Marco Acuoso

Muestra 2: Quishuar Acuoso

Muestra 3: Cedrón Acuoso

Muestra 4: Capulí Acuoso

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	873.517	3	291.172	382.72	0.0000
Intra grupos	15.216	20	0.760801		
Total (Corr.)	888.733	23			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 % Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Cedrón Acuoso	6	65.4085	A
Marco Acuoso	6	77.4085	B
Capulí Acuoso	6	77.4648	B
Quishuar Acuoso	6	81.5211	C

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Comparación de la capacidad antioxidante entre todas las especies vegetales

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1781.76	8	222.72	294.55	0.0000
Intra grupos	34.0266	45	0.756146		
Total (Corr.)	1815.79	53			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 % Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Cedrón Acuoso	6	65.4085	A
Cedrón Etanólico	6	70.9577	B
Control (Trolox)	6	71.38	B
Marco Acuoso	6	77.4085	C
Capulí Acuoso	6	77.4648	C
Marco Etanólico	6	79.9155	D
Capulí Etanólico	6	80.0282	D
Quishuar Acuoso	6	81.5211	D
Quishuar Etanólico	6	84.6197	E

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Anexo G. Análisis estadístico de la actividad hipoglucemiante de las distintas especies vegetales.

Comparación de la actividad hipoglucemiante en cada concentración realizada en las matrices vegetales

Marco (*Ambrosía arborescens*)

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4073.83	9	452.648	62.38	0.0000
Intra grupos	217.707	30	7.25688		
Total (Corr.)	4291.54	39			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Etanólico 100 µg	4	12.9343	A
Etanólico 200 µg	4	19.1078	A B

Acuoso 100 µg	4	22.0431	B C
Etanólico 300 µg	4	23.779	B C D
Acuoso 200 µg	4	27.9809	C D E
Acuoso 300 µg	4	29.6234	D E
Acuoso 400 µg	4	32.8289	E
Etanólico 400 µg	4	33.946	E
Acuoso 500 µg	4	41.1949	F
Etanólico 500 µg	4	48.9536	G

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Quishuar (*Buddleja incana*)

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2779.97	9	308.886	36.67	0.0000
Intra grupos	252.696	30	8.4232		
Total (Corr.)	3032.67	39			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Etanólico 100 µg	4	9.56206	A
Etanólico 200 µg	4	19.3597	B
Acuoso 100 µg	4	19.7642	B
Acuoso 200 µg	4	22.0583	B C
Etanólico 300 µg	4	22.5172	B C D
Acuoso 300 µg	4	25.8968	B C D
Acuoso 400 µg	4	27.8267	C D
Etanólico 400 µg	4	29.4229	D E
Acuoso 500 µg	4	34.9165	E F
Etanólico 500 µg	4	41.0147	F

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Cedrón (*Aloysia citrodora*)

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2302.8	9	255.867	42.78	0.0000
Intra grupos	179.427	30	5.98089		
Total (Corr.)	2482.23	39			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Etanólico 100 µg	4	10.1298	A
Acuoso 100 µg	4	10.7228	A B
Acuoso 200 µg	4	12.4005	A B
Etanólico 200 µg	4	13.6338	A B
Etanólico 300 µg	4	16.0412	B C
Acuoso 300 µg	4	16.2072	B C
Acuoso 400 µg	4	20.9473	C D
Etanólico 400 µg	4	26.622	D E
Acuoso 500 µg	4	26.94	E
Etanólico 500 µg	4	33.6762	F

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Capulí (*Prunus serotina*)

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1369.35	9	152.15	23.59	0.0000
Intra grupos	193.475	30	6.44917		
Total (Corr.)	1562.82	39			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 % Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Etanólico 100 µg	4	4.36448	A
Acuoso 100 µg	4	5.78711	A
Acuoso 200 µg	4	7.86322	A B
Acuoso 300 µg	4	8.85689	A B
Etanólico 200 µg	4	9.44029	A B
Etanólico 300 µg	4	12.2024	B C
Acuoso 400 µg	4	12.637	B C
Etanólico 400 µg	4	16.7708	C D
Acuoso 500 µg	4	19.3535	C D
Etanólico 500 µg	4	23.6055	D

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Comparación entre la actividad hipoglucemiante entre todos los extractos en base etanólica a 500 µg/mL

Comparación de Varias Muestras

Muestra 1: Marco Etanólico

Muestra 2: Quishuar Etanólico

Muestra 3: Cedrón Etanólico

Muestra 4: Capulí Etanólico

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1397.3	3	465.767	94.13	0.0000
Intra grupos	59.3785	12	4.94821		
Total (Corr.)	1456.68	15			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 % Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Capulí Etanólico	4	23.6055	A
Cedrón Etanólico	4	33.6762	B
Quishuar Etanólico	4	41.0147	C
Marco Etanólico	4	48.9536	D

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Comparación entre la actividad hipoglucemiante entre todos los extractos en base acuosa a 500 µg/mL

Comparación de Varias Muestras

Muestra 1: Marco Acuoso

Muestra 2: Quishuar Acuoso

Muestra 3: Cedrón Acuoso

Muestra 4: Capulí Acuoso

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1083.06	3	361.019	196.35	0.0000
Intra grupos	22.0633	12	1.83861		
Total (Corr.)	1105.12	15			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 % Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Capulí Acuoso	4	19.3535	A
Cedrón Acuoso	4	26.94	B
Quishuar Acuoso	4	34.9165	C
Marco Acuoso	4	41.1949	D

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa

Comparación entre todas las especies vegetales a 500 µg/mL en base etanólica y acuosa

Comparación de Varias Muestras

Muestra 1: Control (Acarbosa)

Muestra 2: Marco Acuoso

Muestra 3: Marco Etanólico

Muestra 4: Quishuar Acuoso

Muestra 5: Quishuar Etanólico

Muestra 6: Cedrón Acuoso

Muestra 7: Cedrón Etanólico

Muestra 8: Capulí Acuoso

Muestra 9: Capulí Etanólico

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	11720.6	8	1465.08	485.69	0.0000
Intra grupos	81.4445	27	3.01646		
Total (Corr.)	11802.1	35			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 % Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Capulí Acuoso	4	19.3535	A
Capulí Etanólico	4	23.6055	B
Cedrón Acuoso	4	26.94	B
Cedrón Etanólico	4	33.6762	C
Quishuar Acuoso	4	34.9165	C
Quishuar Etanólico	4	41.0147	D
Marco Acuoso	4	41.1949	D
Marco Etanólico	4	48.9536	E
Control (Acarbosa)	4	83.827	F

En aquellas letras que forman la misma columna no se presenta una diferencia significativa