

**“UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA”  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



Perfil químico y potencial antioxidante de los rizomas  
de *Niphidium crassifolium* L.

Tesis para optar el Título Profesional de:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**Presentado por:**

Bach. MANCILLA SANTA CRUZ, ROSY YESELA

**Asesor**

Dr. Q.F. ARONÉS JARA MARCO ROLANDO

**AYACUCHO - PERÚ**

**2023**

A Dios por ser la parte fundamental de mi vida, mis padres, hermanos y pareja por el apoyo incondicional constante.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi Alma Mater, “Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales al servicio de la sociedad y sobre todo en el campo de la Salud”.

A la “Facultad de Ciencias de la Salud, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica”, en especial al “Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos”.

Al Dr. Q.F. Marco Rolando Arones Jara por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en la dirección de esta tesis.

## ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO .....	5
2.1. Antecedentes del estudio .....	5
2.2. Redacción del marco teórico .....	7
2.2.1. <i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger .....	7
2.2.2. Metabolitos secundarios .....	9
2.2.3. Radicales libres y el estrés oxidativo .....	10
2.3. Marco conceptual.....	12
2.4. Hipótesis .....	12
2.5. Selección de las variables para el estudio.....	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1. Ubicación .....	15
3.2. Población y muestra.....	15
3.3. Procedimiento para la recolección de datos .....	15
3.3.1. Evaluación de la composición química.....	15
3.3.2. Preparación del extracto de los rizomas de <i>N. crassifolium</i> .....	15
3.3.3. Determinación del contenido de fenoles totales (TPC).....	16
3.3.4. Cuantificación de flavonoides (TFC) .....	16
3.3.5. Determinación de la actividad antioxidante (AA%) .....	16
3.4. Tipo de investigación.....	17
3.5. Diseño de investigación.....	17
3.6. Análisis estadístico.....	17
III. RESULTADOS .....	19
IV. DISCUSIÓN .....	31
V. CONCLUSIONES.....	37
VI. RECOMENDACIONES .....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	41

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger	21
Tabla 2. Determinación de los compuestos químicos de <i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger mediante LC-MS/MS	27

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Estructura de un rizoma	12
Figura 2. Contenido de compuestos fenólicos en el rizoma de <i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger	22
Figura 3. Actividad antioxidante por el método DPPH del rizoma de <i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger	23
Figura 4. Concentración eficiente antioxidante por el método DPPH del rizoma de <i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger	24
Figura 5. Actividad antioxidante por el método ABTS del rizoma de <i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger	25
Figura 6. Concentración eficiente antioxidante por el método ABTS del rizoma de <i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger	26

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
Anexo 1. Identificación taxonómica de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	50
Anexo 2. Curva de calibración de ácido gálico para cuantificar el contenido de compuestos fenólicos de <i>Niphidium crassifolium</i>	51
Anexo 3. Curva de calibración de rutina para cuantificar del contenido de flavonoides de <i>Niphidium crassifolium</i>	52
Anexo 4. Datos descriptivos del contenido de compuestos fenólicos de <i>Niphidium crassifolium</i>	53
Anexo 5. Prueba de homocedasticidad de los valores del contenido de compuestos fenólicos de <i>Niphidium crassifolium</i>	54
Anexo 6. Análisis de varianza de los valores del contenido de compuestos fenólicos de <i>Niphidium crassifolium</i>	55
Anexo 7. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores del contenido de compuestos fenólicos de <i>Niphidium crassifolium</i>	56
Anexo 8. Curva de calibración de DPPH para la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH de <i>Niphidium crassifolium</i>	57
Anexo 9. Datos descriptivos de actividad antioxidante por el método DPPH de <i>Niphidium crassifolium</i>	58
Anexo 10. Prueba de homocedasticidad de los valores de la actividad antioxidante por el método DPPH de <i>Niphidium crassifolium</i>	59
Anexo 11. Análisis de varianza de los valores de la actividad antioxidante por el método DPPH de <i>Niphidium crassifolium</i>	60
Anexo 12. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores de la actividad antioxidante por el método DPPH de <i>Niphidium crassifolium</i>	61
Anexo 13. Datos descriptivos de la concentración eficiente antioxidante por el método DPPH de <i>Niphidium crassifolium</i>	63

Anexo 14.	Prueba de homocedasticidad de la concentración eficiente antioxidante por el método DPPH de <i>Niphidium crassifolium</i>	64
Anexo 15.	Análisis de varianza de los valores de la concentración eficiente antioxidante por el método DPPH de <i>Niphidium crassifolium</i>	65
Anexo 16.	Análisis de comparaciones múltiples de Tukey de la concentración eficiente antioxidante por el método DPPH de <i>Niphidium crassifolium</i>	66
Anexo 17.	Datos descriptivos de actividad antioxidante por el método ABTS de <i>Niphidium crassifolium</i>	67
Anexo 18.	Prueba de homocedasticidad de los valores de la actividad antioxidante por el método ABTS de <i>Niphidium crassifolium</i>	68
Anexo 19.	Análisis de varianza de los valores de la actividad antioxidante por el método ABTS de <i>Niphidium crassifolium</i>	69
Anexo 20.	Análisis de comparaciones múltiples de Tukey de los valores de la actividad antioxidante por el método ABTS de <i>Niphidium crassifolium</i>	70
Anexo 21.	Datos descriptivos de la concentración eficiente antioxidante por el método ABTS de <i>Niphidium crassifolium</i>	72
Anexo 22.	Prueba de homocedasticidad de la concentración eficiente antioxidante por el método ABTS de <i>Niphidium crassifolium</i>	73
Anexo 23.	Análisis de varianza de los valores de la concentración eficiente antioxidante por el método ABTS de <i>Niphidium crassifolium</i>	74
Anexo 24.	Análisis de comparaciones múltiples de Tukey de la concentración eficiente antioxidante por el método ABTS de <i>Niphidium crassifolium</i>	75
Anexo 25.	Matriz de consistencia	76

## RESUMEN

*Niphidium crassifolium* Lellinger, es una especie nativa de la región de Ayacucho y con amplia distribución en las regiones Chiclayo, Ancash y Piura. Se ha reportado estudios fitoquímicos preliminares y de actividades cicatrizante, antifúngica y antiproliferativa. El objetivo de la presente investigación fue determinar el perfil químico y el potencial antioxidante del rizoma de *N. crassifolium*. La composición fitoquímica preliminar del rizoma se evaluó mediante el ensayo cualitativo a la gota. El contenido de fenoles totales (TPC) se evaluó por el método de Folin-Ciocalteu y el contenido de flavonoides usando el reactivo de tricloruro de aluminio. La actividad antioxidante (AA) se evaluó por los métodos *in vitro* del 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) y del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS<sup>•+</sup>). El TPC, TFC y AA se evaluó tanto en el rizoma completo, como en sus diferentes secciones. El perfil químico del rizoma fue determinado por Cromatografía líquida acoplada a Espectrometría de Masas. Se evidenció la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos, catequinas, triterpenos y/o esteroides, saponinas, aminoácidos, quinonas, flavonoides y glicósidos cardiotónicos. El rizoma proximal presenta valores superiores de TPC de  $264,6 \pm 0,2$  mgGAE/g y la raíz adventicia presenta valores superiores de TFC de  $54,1 \pm 0,6$  mgRUE/g ( $p < 0,05$ ). El rizoma presenta actividad antioxidante y directamente proporcional al contenido de TPC, aunque estadísticamente menor al Trolox. El perfil químico identificó la presencia mayoritaria de saponinas, fitoecdisteroides, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos. Se concluye que el rizoma de *N. crassifolium* presenta compuestos activos que le confieren actividad antioxidante.

**Palabras clave.** *Niphidium crassifolium* Lellinger, potencial antioxidante, perfil químico.

## I. INTRODUCCIÓN

Nuestro país es uno de los doce países con la mayor diversidad biológica, con 10% aproximadamente de la flora mundial, con 2500 especies de las cuales 30 de ellas son endémicas.<sup>1</sup> El interés en los componentes de los activos en nuestras plantas nativas como una alternativa al uso de compuestos químicos han intensificado las investigaciones.<sup>2</sup>

Estudios han demostrado que los compuestos naturales tienen la capacidad para limitar las reacciones de radicales mediante las transferencias de átomos de hidrogeno o electrones estas siendo importantes para la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, dicho compuesto denominado antioxidantes.<sup>3</sup> Los antioxidantes sintéticos que han sido utilizados tradicionalmente en los alimentos pero han demostrado que causan toxicidad,<sup>4</sup> por lo cual están siendo remplazados por una variedad de antioxidantes naturales, por ello por razones de salud la capacidad antioxidante se han convertido en un tema de gran interés. Se han llevado a cabo numerosos ensayos para proporcionar la actividad antioxidante de compuestos y extractos naturales.<sup>5</sup>

El uso de las plantas para poder curar, conservar y embellecer la piel es muy antigua. Por lo cual, con el actual resurgimiento de uso de las plantas medicinales con objetivo terapéutico, fitodermatológico como los fitocosméticos han sido muy favorecidos, de este modo hay una grande variedad de productos fitoterapéuticos que tiene por finalidad proteger y cuidar la piel de agresiones externas. Las plantas son la fuente de una gran variedad de moléculas naturales útiles en la fotoprotección. Entre los más comunes están terpenos, flavonoides, carotenoides, catequinas y antocianinas. Algunas de esas moléculas naturales pueden actuar como filtros solares.<sup>6,7</sup>

La literatura revela, por ejemplo, que el extracto del té verde (*Camellia sinensis*), puede reducir la fotoinmunosupresor producida por la radicación UVB, ya que los

polifenoles del té interfieren el metabolismo de ácido araquidónico y también evitan daños del ADN celular que la radiación solar produce.<sup>8</sup>

La capacidad antioxidante es un aspecto muy investigado en alimentos y la cual se asocia al contenido de compuestos fenólicos.<sup>9</sup>

*Niphidium crassifolium* L. es una especie que ha sido utilizada como medicina tradicional en la salud de la población en los sectores rurales del distrito de Quinua y es una especie con escasos estudios científicos. En este contexto, el presente trabajo tiene como finalidad evaluar el perfil químico y potencial antioxidante del extracto hidroalcohólico de rizomas de *Niphidium crassifolium* L. con lo cual deseamos cubrir el vacío científico. La investigación contribuirá al conocimiento de la especie de *Niphidium crassifolium* L. tal es así, el perfil químico que no ha sido estudiada. Así mismo se sustenta en los antecedentes de la misma familia Polypodiaceae, sobre su importante actividad antioxidante y fotoprotectora. La presente investigación se justifica debido a la gran necesidad actual sobre el conocimiento de componentes farmacológicos, tomando en consideración que día a día estamos expuestos a diferentes enfermedades, que los antioxidantes pueden ayudar en el tratamiento, por ejemplo, de muchos tipos de cáncer. Por ello pretende brindar una alternativa de solución farmacológica que se desarrolla a base de un recurso natural, que abunda en nuestro alrededor de nuestra región, llegando así a revalorar el uso tradicional de esta planta.

La presente investigación aporta al conocimiento de nuevas especies y del desarrollo de diferentes presentaciones farmacológicas a base de extractos de plantas medicinales que no han sido estudiadas. El potencial antioxidante de la especie de *Niphidium crassifolium* L. será realizada en estudios *in vitro* con los métodos ABTS, DPPH porque son métodos que nos ayudan a jerarquizar el potencial terapéutico de las plantas, así darles el uso farmacológico correcto. El perfil químico de compuestos se realizará por medio de Cromatografía líquida de ultra - alta performance acoplada a Espectrometría de Masas (LC-MSMS). En este contexto, la investigación es factible y viable que contribuirá al conocimiento científico.

En el ámbito científico, la evaluación de la actividad antioxidante de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L., se justifica, ya que se han realizado ensayos en la familia de la especie, los cuales tienen efecto fotoprotector demostrando su capacidad de absorber luz UVA, UVB, gracias al contenido de compuestos antioxidantes.

Desde el enfoque humanístico, la presente investigación se justifica debido a la necesidad actual sobre el conocimiento y prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Por lo que, se pretende brindar los resultados de la investigación donde se determinará la capacidad antioxidante con los métodos más utilizados que incluyen la capacidad de absorción de radicales de oxígeno, estos extractos pueden ser incorporados en cremas, geles, fotoprotectores, cápsulas, etc. una alternativa desarrollada a base de un recurso natural, que abunda en las zonas altoandinas de nuestra región. De esta manera, se pretende revalorar el uso tradicional de esta planta para prevenir los efectos adversos de la radiación solar.

Tecnológicamente, la presente investigación, aporta al conocimiento del desarrollo de formulaciones y otras presentaciones farmacológicas a base de extractos de plantas medicinales. En ese sentido, esta investigación deviene en viable y factible y contribuirá al conocimiento y revaloración de la flora medicinal de nuestra región.

#### **Objetivo general**

Determinar el perfil químico y el potencial antioxidante del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

#### **Objetivos específicos**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.
- Cuantificar el contenido fenoles totales y flavonoides del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.
- Identificar los compuestos químicos de la planta *Niphidium crassifolium* L. a través del perfil químico.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

**Carraz et al.**,<sup>10</sup> en el 2015, reportaron los resultados de su investigación sobre la actividad antiproliferativa y modificación fenotípica inducida por plantas medicinales peruanas seleccionadas en células Hep3B de carcinoma hepatocelular humano. Las especies vegetales fueron recolectadas en los departamentos de Chiclayo y Ancash. Entre sus resultados etnobotánicos informaron que *Niphidium crassifolium* es usado como depurativo, desintoxicante general del organismo, para todos los problemas de la piel y como inmunoestimulante general. Asimismo, informaron que *N. crassifolium* presenta actividad antiproliferativa en células Hep3B.

**Garcés**,<sup>11</sup> en el 2017, en su investigación sobre la etnobotánica en caseríos del distrito de Canchaque de Piura, informó sobre los usos de *N. crassifolium*. Al respecto, refiere que la planta completa de *N. crassifolium* es usado para las infecciones urinarias y se preparan como cocimiento y se administra como bebida.

**Rodriguez**,<sup>12</sup> en el 2018, reportaron los resultados de su investigación sobre la importancia socioambiental de nuevos antifúngicos de especies vegetales del Parque Nacional de Itatiaia en Brasil. Entre ellos, evaluó la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de *N. crassifolium* sobre el hongo simbionte de las hormigas *Atta sexdens rubropilosa*. El extracto de *N. crassifolium* inhibieron el crecimiento del hongo en aproximadamente 40%. Concluye que el extracto de *N. crassifolium* se mostró como uno de los más promisorios para la determinación de la concentración mínima inhibitoria para futuras formulaciones de productos antifúngicos. Asimismo, identificaron la presencia de hasta nueve terpenoides en el extracto de *N. crassifolium* mediante cromatografía en capa fina (CCF), de los cuales uno de los terpenoides presentó un valor de Rf similar al beta-sitosterol. De igual manera identificaron, mediante CCF, la presencia de hasta trece compuestos fenólicos, de los cuales uno de ellos presentó un valor de Rf similar a la rutina.

**Vargas,**<sup>13</sup> en el 2022, identificaron los metabolitos secundarios y evaluaron el efecto antiinflamatorio y cicatrizante del extracto etanólico de rizomas de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger “calaguala” recolectados en el departamento de Ancash. Entre sus resultados identificaron la presencia de flavonoides, flavonas, taninos y quinonas, mediante un análisis fitoquímico preliminar y por cromatografía en capa fina. Asimismo, se demostró su efecto cicatrizante en ratones.

Como se ha evidenciado, *Niphidium crassifolium* es una especie con estudios todavía preliminares; sin embargo, se han reportado diversos estudios de *Polypodium leucotomos*, una especie representativa que pertenece a la misma familia. *P. leucotomos* que es un helecho tropical que pertenece al género *Polypodium* y a la familia *Polypodiaceae*,<sup>14,15</sup> que tradicionalmente se ha usado en tratamientos inflamatorios y tumores cutáneos;<sup>16</sup> asimismo, ha demostrado poseer saponinas<sup>17</sup> y compuestos fenólicos<sup>18</sup> como ácido vinílico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido caféico y ácido cumarínico<sup>18-20</sup> adquiridos de los rizomas<sup>17,21</sup> y las hojas.<sup>22,23</sup> Sus propiedades aplica a ciertas patologías dermatológicas<sup>24</sup> tales como, tumores cutáneos,<sup>16</sup> eritema y pigmentación,<sup>25</sup> melanoma,<sup>26</sup> dermatitis atópica,<sup>27</sup> erupción cutánea,<sup>28</sup> cáncer de piel,<sup>29,30</sup> fotodermatosis, vitiligo, melasma, psoriasis, dermatitis atópica,<sup>31,32</sup> por consiguiente ha generado bastante interés en la investigación cosmética y otros. Cabe mencionar que *Polypodium leucotomos* demostró efectos positivos a favor de la salud en como suplemento dietético,<sup>33</sup> amigdalitis,<sup>34</sup> inmunomodulador de linfocitos y citocinas,<sup>35</sup> tricomoniasis,<sup>36</sup> enfermedades infecciosas,<sup>37</sup> colitis aguda,<sup>38</sup> queratosis en el cuero cabelludo,<sup>39</sup> erupción lumínica polimórfica.<sup>28</sup> Las presentaciones farmacéuticas de *Polypodium leucotomos* son el gel tópico, crema, aerosol, maquillaje en polvo compacto y cápsula oral que actúan como agente sistémico antioxidante.<sup>32</sup>

Otra especie, es *Polypodium feuillei* conocido como calahuala o yerba del lagarto, helecho epífito que su rizoma, raíces y tallos se usan en infusión o decocción en afecciones pulmonares crónicas, catarros bronquiales, tos, malestares gástricos, cólicos, fiebre; se le considera un depurativo, expectorante y sudorífico.<sup>40</sup>

*Polypodium angustifolium* que también es conocido como calaguala por la composición química de presentar azúcares, aceites esenciales, almidones, nitrato de potasio, glicósidos de saponina calahualina, que le proporciona actividad anti-tumoral, polipodosapogenina, osaldina, ácido glicoretínico, esteroides (ecdiserona y polipodaureína), aceites grasos, taninos, resinas y colorante rojo.

Estudios realizados por el Dr. Wren (1994) mencionan las cualidades de esta planta como expectorante, antitusígena, afecciones gastrointestinales, respiratorias y cardíacas. Alivia el dolor de huesos o reumatismo, problemas renales, es un excelente antidiabético, las raíces de esta planta suelen ser remedios para purificar la sangre siendo un buen sudorífico.<sup>41</sup>

## 2.2. Redacción del marco teórico

### 2.2.1. *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger

*Niphidium crassifolium* L. es una especie que pertenece a la familia polypodiaceae, género *Niphidium* y es conocido vulgarmente como calahuala (Anexo 1). *Niphidium crassifolium* también fue identificada como *Polypodium crassifolium*, *Anaxetum crassifolium*, *Drynaria crassifolia*, *Dipterys crassifolia*, *Pleuridium crassifolium*, *Pessoteris crassifolia*.<sup>42</sup>

Respecto a su **morfología**, es una “hierba epífita, ocasionalmente o terrestre o rupícola: filopodios de hasta 5 mm; escamas del rizoma 8 – 12 por 2,5 – 4,0 mm, enteras o escasamente repandas, a veces erosas con la edad, con una banda central de células clatradas, negruzcas, éstas (2-)-3-5 veces más largas que anchas; pecíolo de 5-15 (50) cm; lámina (30-)45-80 (-105) por 6-11 (-18) cm, angostamente oblanceolada o angostamente elíptica, la base atenuada, con hidátodos conspicuos en el haz”.<sup>42</sup> Es una especie que crece en las alturas,



**Figura 1.** Fotografía de *Niphidium crassifolium*

y posee **rizomas** que pueden medir aproximadamente de 8-15 cm, la cuales presentan muchas raíces secundarias que son de color marrón oscuro; asimismo, los rizomas tienen escamas.

Esta especie crece en **suelos** de textura arcillosa, areno arcilloso, limo-arcilloso, limoso, arenoso, arenoso-franco, franco-areno-arcilloso, franco-arcilloso, franco-limo-arcilloso, franco-arenoso, franco-limoso. Su **hábitat** frecuente es en las selvas perennifolias, bosques de neblina, bordes de camino, acantilados, laderas rocosas, a menudo en troncos de árboles tanto viejos como caídos.<sup>42</sup> Crecen en **climas** templados y fríos, de **temperatura** entre 10-22 °C, con una **precipitación** entre 500-1500 mm y una **humedad atmosférica** de 50-80%.<sup>42</sup>

*N. crassifolium* crece a **altitudes** entre 100-3000 msnm, con una **distribución latitudinal** de 2°-17° y una **distribución por departamentos** entre Tumbes, Cajamarca, Amazonas, San Martín, La Libertad, Ancash, Loreto, Pasco, Junín, Cusco y Puno.<sup>42</sup>

Respecto a su caracterización fitogeográfica, *N. crassifolium*, según Pulgar (1967) crece en la región Chala o Costa, región Yunga, región Quechua; según Tosi (1960) región Bosque Seco Tropical (bs-T), Bosque Seco Premontano Tropical (bs-PT), Bosque Seco Subtropical (bs-S), Bosque Seco Montano Bajo Subtropical (bs-MBS).<sup>42</sup>

La **época de floración y fructificación** es durante todo el año y la **forma de propagación** es por esporas y vegetativa (rizomas).<sup>42</sup>

Entre sus **usos tradicionales**, *N. crassifolium* es usado como depurativo, desintoxicante del organismo, para problemas de la piel y como inmunoestimulante.<sup>10</sup> También se ha reportado su uso para la inflamación de riñones, próstata, vejiga, hinchazón interna, hígado, úlceras.<sup>10</sup> Asimismo, se usa para las infecciones urinarias,<sup>11</sup> diurética, enfermedades de las vías urinarias y próstata.<sup>42</sup>

Para su **preparación**, se hace hervir suavemente un puñado de raíces finamente picadas en 1,5 L de agua, durante 15 minutos. Su **administración** consiste en beber como agua durante todo el día.<sup>10</sup> Para las infecciones urinarias se prepara como cocimiento y se administra como bebida.<sup>11</sup>

Respecto a **actividad biológica**, se ha demostrado que *N. crassifolium* tiene actividad antiproliferativa en células Hep3B.<sup>10</sup> También se ha evidenciado su actividad antifúngica.<sup>12</sup> Un estudio en ratones evidenció su efecto cicatrizante.<sup>13</sup>

Con respecto a la **composición química**, se ha identificado la presencia de triterpenos y compuestos fenólicos.<sup>12</sup> Otros estudios reportaron la presencia de flavonoides, flavonas, taninos y quinonas.<sup>13</sup> Las especies de la familia Polypodiaceae, según los estudios indican la presencia de saponinas

(polipodosapogenina) u osaldina (sabor dulce), también aceites esenciales y taninos en hojas.<sup>43</sup>

### 2.2.2. Metabolitos secundarios

“Los **compuestos fenólicos** poseen un gran potencial antioxidante, debido a que son muy sensibles de ser oxidados y tienen la propiedad de impedir que los metales catalicen las reacciones de oxidación. De manera que los grupos hidroxilos al estar unidos a un anillo bencénico, presentan la posibilidad de que el doblete del átomo de oxígeno sea capaz de interactuar con los electrones del anillo, lo que hace que tenga características distintas al resto de los alcoholes. Dado a su naturaleza aromática, muestran intensa absorción en la región UV de espectro, siendo este el método espectral especialmente importante para su identificación”.<sup>44</sup>

“Los **polifenoles** poseen anillos bencénicos que absorben la radiación UVB, la cual es altamente energética y es la responsable de la formación de radicales libres, estos a su vez protegen a los componentes celulares contra el daño oxidativo a través de la eliminación de estos radicales libres. La actividad antioxidante de los polifenoles se debe a su interacción con iones metálicos tanto *in vitro* como *in vivo*. Los iones metálicos son la causa principal de la generación de especies reactivas de oxígeno (EROS) y desempeñan un papel importante en la generación de estrés oxidativo, daños en el ADN y muerte celular. Las células responden a los polifenoles principalmente a través de interacción directa con receptores o enzimas involucradas en la transducción de señales, lo que puede modificar el estado redox de la célula y desencadenar una serie de reacciones dependientes de redox”.<sup>45</sup>

“Los **flavonoides**, se caracterizan por estar formado por dos anillos aromáticos y un heterocíclico haciendo un sistema C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Los anillos son denominados como A y B para los aromáticos y C para el heterocíclico, varían de acuerdo con los sustituyentes que pueden ser hidroxilos o metóxilos.<sup>46</sup> La capacidad antioxidante de los flavonoides se atribuye a los sustituyentes dihidroxilados en posiciones C<sub>3'</sub> y C<sub>4'</sub> del anillo B; la evidencia del enlace doble entre los átomos de carbono C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub>, un grupo hidroxilo libre en C<sub>3</sub> y un grupo carbonilo en C<sub>4</sub> presentan interés biológico y farmacológico, como se presenta en la quercetina”. “La actividad antioxidante de los flavonoides se debe a sus propiedades quelantes de átomos de hierro y el secuestro de los radicales libres. Se indica que esta

propiedad también está relacionada con una geometría plana, ya que ésta permite una deslocalización mayor de los electrones a través de los anillos".<sup>47</sup>

Los **flavonoides**, se encuentran como pigmentos naturales presentes en los vegetales, semillas, frutas que tienen la capacidad de proteger contra agentes oxidantes producido por la radiación UV y por otros factores ambientales. Estos metabolitos secundarios son pigmentos no fotosintéticos debido a los efectos de fotoprotección que presentan en las plantas, por lo que van a actuar como filtros solares. Por lo que, si son capaces de proteger a las células de las plantas, también pueden brindar protección a las células de la piel de los seres humanos, su actividad fotoprotectora se da por la concentración de electrones deslocalizados que posee en los anillos bencénicos de su estructura química, facilitando de esta manera el traslado de la energía. Los anillos bencénicos absorben la radiación UV-B, la cual es altamente energética y es la responsable de la formación de radicales libres.<sup>47</sup>

### **2.2.3. Radicales libres y el estrés oxidativo**

El oxígeno es esencial para el desenvolvimiento de la vida aerobia, de las cuales también derivan moléculas inestables a las cuales se les designa como radicales libres estas pueden causar tremendo daño a nivel celular, cuando se pierde el equilibrio en estas moléculas<sup>45</sup>

Los estímulos como la radiación solar son consideradas la mayor fuente de producción de radicales libres en nuestro organismo, ellas siendo responsables del estrés oxidativo. Por ello, "la radiación UV-A interacciona con cromóforos (citocromos, riboflavina, grupo hemo y porfirina), u otras moléculas de la piel con capacidad para absorber su energía, y pasar así a un estado excitado. Al descender nuevamente al estado fundamental, la energía emitida se transfiere a especies reactivas de oxígeno, produciendo de forma inespecífica cierto daño celular sobre el ADN.<sup>50</sup> Por el contrario, la radiación UV-B actúa de manera directa en el ADN, pudiendo degenerar en mutagénesis y carcinogénesis.<sup>47</sup> Así mismo, se ha relacionado la participación del enzima COX-2 en el fotoenvejecimiento, en comparación con pieles jóvenes o poco expuestas a la radiación.<sup>52</sup> Tras la exposición solar, los desencadenantes de radicales libres inducen el proceso de inflamación, mediado por citoquinas proinflamatorias".<sup>46</sup>

La radiación UV-B estimula la síntesis del enzima en queratinocitos y fibroblastos a través de dichas interleucinas y el factor nuclear B (NF-κB). La acción anti-

apoptótica del enzima podría estar implicada en la aceleración de la senescencia celular, característica del fotoenvejecimiento.<sup>47</sup>

Los **antioxidantes**, son cualquier sustancia que va retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, esta puede ser; lípido, proteína, DNA u otro tipo de molécula.<sup>48</sup> Los antioxidantes al retardar o inhibir la degradación oxidativa de las moléculas orgánicas, ayudan a prevenir la formación de colores y olores desagradables; ellos pueden ser de origen sintético o natural, pero la mayoría de los que se utiliza comercialmente son de origen sintético. Debido a que algunos de los antioxidantes sintéticos, son altamente inestables bajo las condiciones de trabajo y en ciertos casos ocasionan efectos adversos sobre la salud de animales de experimentación, los investigadores han intentado encontrar sustancias más estables, eficaces, versátiles y/o menos tóxicas.<sup>49</sup>

La sobreproducción de oxidantes en determinadas condiciones puede producir un desequilibrio que conduzca a daño oxidativo de diferentes biomoléculas tales como lípidos, ADN, y proteínas. La presencia de antioxidantes tiene un efecto protector, tal es el caso de los polifenoles.<sup>50</sup> Así la inclusión de sustancias antioxidantes en cosméticos y fotoprotectores resulta ser la principal estrategia para prevenir el fotoenvejecimiento.<sup>51</sup>

Los radicales libres son átomos o moléculas inestables, altamente reactivas, incluso pueden conllevar a la muerte celular<sup>52</sup> lo que implica que son responsable del fotoenvejecimiento, inmunosupresión, fototoxicidad, fotoalergia y fotocarcinogénesis.<sup>22,53-55</sup> para evitar estos daños se busca estrategias como la fotoprotección con antioxidantes naturales que tiene la finalidad de limitar tales efectos previniendo así los eritemas, inflamación, arrugas, fotoenvejecimiento y cáncer a la piel<sup>56</sup> neutralizando los radicales libres inducidos por los rayos UV, manteniendo la homeostasis cutánea, debido a eso ha generado una mayor atención en el área de las ciencia cosméticas ya que se pueden aprovechar para mejorar, suplir o disminuir la cantidad de agentes sintéticos que se usa en la formulación de fotoprotectores tradicionales, sin causar toxicidad significativa en el organismo o en la piel,<sup>57</sup> ya que los protectores solares tradicionales en su composición presentan compuestos inorgánicos como el dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) y el óxido de zinc (ZnO) minerales que disocian los rayos UVA y UVB pero sin embargo presenta partículas inertes a menudo son visibles como una capa opaca indeseable sobre la piel<sup>58</sup> y sobre todo la seguridad ya que estas son partículas metálicas y pueden presentar toxicidad potencial, por ello los investigadores han

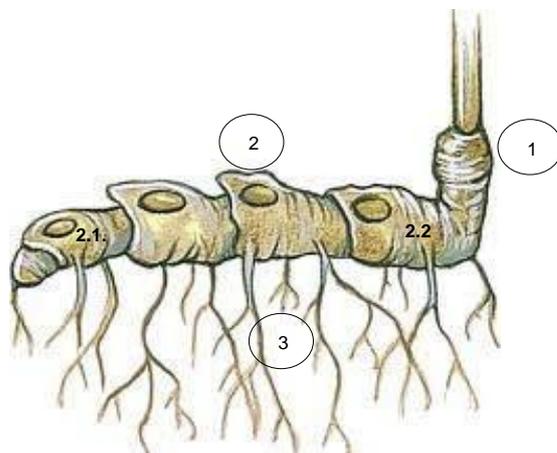
estudiado a *Polypodium leucotomos* compuestos de interés con diversas propiedades entre las cuales los protectores de los rayos UV además las diferentes presentaciones farmacéuticas y en los últimos años con demanda muy elevada la administración oral que son las cápsulas antioxidantes.<sup>59</sup>

Sobre *Polypodium leucotomos* que evalúan las propiedades con énfasis antioxidante y fotoprotectora a fin de contribuir a la continuidad de la investigación de esta especie, cabe destacar que el extracto de *Polypodium leucotomos* ha sido patentado con el nombre de (Fernblock®XP).<sup>60</sup>

### 2.3. Marco conceptual

**Rizoma.** “El rizoma es un tallo horizontal que crece subterráneamente o a lo largo de la superficie del terreno. Es el eje principal de la planta y emite raíces y brotes herbáceos de sus nudos”.<sup>61</sup>

**Estructura del rizoma.** “El rizoma produce raíces en su cara inferior y envía ramas y yemas floríferas a la superficie del suelo. Puede ser grueso y carnoso o delgado y elongado, pero siempre tiene nudos y entrenudos. Los meristemas laterales que salen en los nudos producen brotes aéreos o ramas laterales del rizoma. Las raíces son adventicias y aparecen en la cara inferior del rizoma, generalmente en la proximidad de un nudo” (Figura 1).<sup>61</sup>



**Figura 1.** Estructura de un rizoma. (1) Rama lateral, (2) Rizoma, (2.1) Rizoma distal, (2.2) Rizoma proximal (3) Raíz adventicia

### 2.4. Hipótesis

**Hi:** Los rizomas de *Niphidium crassifolium* L. presenta un contenido moderado de fenoles totales y flavonoides.

**Hi:** El extracto de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L. presenta actividad antioxidante.

**Ho:** El extracto de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L. no presenta actividad antioxidante.

## **2.5. Selección de las variables para el estudio**

### **Variable independiente**

Perfil químico de los rizomas *Niphidium crassifolium* L. (presencia/ausencia).

Extracto hidroalcohólico de *Niphidium crassifolium* L. ( $\mu\text{g/mL}$ ). Sus indicadores son el contenido de compuestos fenólicos y el contenido de flavonoides.

### **Variable dependiente**

Actividad antioxidante (AA %,  $\text{CE}_{50}$ ).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación

El presente estudio se llevó a cabo en los laboratorios del “Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga”.

#### 3.2. Población y muestra

**a) Población.** Rizomas de *Niphidium crassifolium* L. recolectadas en la zona conocida como Oscohuilca (Latitud: 13° 3' 21" sur - Longitud 74° 6' 21" oeste - Altitud de 3608 msnm) en el distrito de Quinua de la provincia de Huamanga en la región de Ayacucho, durante el mes de mayo.

**b) Muestra.** 500 gramos de los rizomas de *N. crassifolium*.

#### 3.3. Procedimiento para la recolección de datos

##### 3.3.1. Evaluación de la composición química

La identificación química de los rizomas de *N. crassifolium* se realizó por el método de análisis cualitativo de ensayo a la gota.<sup>62,63</sup>

El análisis de la composición química de los rizomas de *N. crassifolium* L, se realizó mediante el perfil químico de compuestos por medio de Cromatografía líquida de ultra-alta performance acoplada a Espectrometría de Masas (LC-MSMS). El análisis se realizó en la Universidad Peruana Cayetano Heredia en el Laboratorio de Control de Calidad.

##### 3.3.2. Preparación del extracto de los rizomas de *N. crassifolium*

El extracto de los rizomas de *N. crassifolium* L. fue obtenido por extracción por maceración dinámica con alcohol de 50° durante 24 horas y luego se filtró y concentró en un rotavapor. El extracto concentrado se secó mediante secado por pulverización utilizando el Mini Spray Buchi- 290.

### 3.3.3. Determinación del contenido de fenoles totales (TPC)

La cuantificación de fenoles totales en el extracto liofilizados se realizó usando el reactivo Folin-Ciocalteu (RFC) según lo descrito por Sousa et al.<sup>64</sup> La concentración se calculó a partir de la curva patrón de ácido gálico ( $y = 0,01x + 0,0066$ ) y el contenido de fenoles totales fue expresado en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg GAE/g).

### 3.3.4. Cuantificación de flavonoides (TFC)

Para la cuantificación de flavonoides (TFC) se utilizó el método colorimétrico de tricloruro de aluminio.<sup>65</sup> Se preparó una solución de 800 µg/mL del extracto seco en etanol de 70 ° por triplicado. Se midió 2,0 mL de cada solución y se adicionó 0,5 mL de AlCl<sub>3</sub> 2% y se completó a volumen de 5,0 mL con etanol 50°. Después de 30 min se midió las absorbancias a 415 nm. La concentración se calculó a partir de la curva patrón de rutina ( $y = 0,0309x - 0,0037$ ) y el TFC fue expresado en miligramos equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (mg RUE/g).

### 3.3.5. Determinación de la actividad antioxidante (AA%)

#### Método DPPH

Se utilizó el método de descrito por Sousa et al.<sup>64</sup> Se preparó una curva estándar de DPPH 1 a 40 µg/mL ( $y = 0,0289x + 0,0019$ ) y para la determinación de la actividad antioxidante en el extracto de los rizomas de *N. crassifolium* L. se prepararon soluciones de 25 a 250 µg/mL. Para la reacción, se midió alícuotas de 300 µL de cada solución y se adicionaron 2,7 mL de solución de DPPH (40 µg/mL), transcurrido 30 minutos se midió la absorbancia a 515 nm, calibrando el espectrofotómetro con el blanco (300 µL de agua y 2,7 mL de DPPH). La actividad antioxidante se expresó en porcentaje según la siguiente ecuación:

$$AA\% = \left[ \frac{A_c - (A_m - A_b)}{A_c} \right] \times 100$$

donde, AA (%): Porcentaje de actividad antioxidante; Ac: Absorbancia del control; Am: Absorbancia de la muestra; Ab: Absorbancia del blanco.

El porcentaje de actividad antioxidante (%AA) se comparó con el Trolox a las mismas concentraciones.

Asimismo, se calculó la concentración eficiente antioxidante (CE<sub>50</sub>) mediante la ecuación de la variación del porcentaje de DPPH remanente debido al extracto y/o Trolox versus concentración del extracto y/o Trolox usando el software OriginPro 8.

### **Método ABTS**

El método ABTS se procesó según lo descrito por Rivas et al.<sup>65</sup> En el análisis se utilizó 100 µL de la muestra y 1 mL de la solución del radical ABTS<sup>+</sup>. La solución del radical ABTS<sup>+</sup> se preparó mezclando 5 ml de solución ABTS 7 [mM] con 88 µL de solución de persulfato de potasio 140 [mM], posteriormente se diluyó en buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 5) hasta obtener una absorbancia de 0,7 nm aproximadamente. Las mediciones se realizaron a una longitud de onda de 734 nm a los 3 min de reacción y a temperatura ambiente. Los resultados se expresaron tal como se indicó para el método DPPH.

### **3.4. Tipo de investigación**

La caracterización química, la evaluación del contenido de fenoles totales y flavonoides de los rizomas del extracto hidroalcohólico de *N. crassifolium*, el perfil químico de la planta y la evaluación de su actividad antioxidante es una investigación de tipo básica.

### **3.5. Diseño de investigación**

La evaluación del perfil químico, contenido de fenoles y flavonoides se realizó a través de un diseño no experimental de tipo transeccional descriptivo y para la evaluación del potencial antioxidante se utilizó un diseño experimental con posprueba y grupo control.<sup>66</sup>

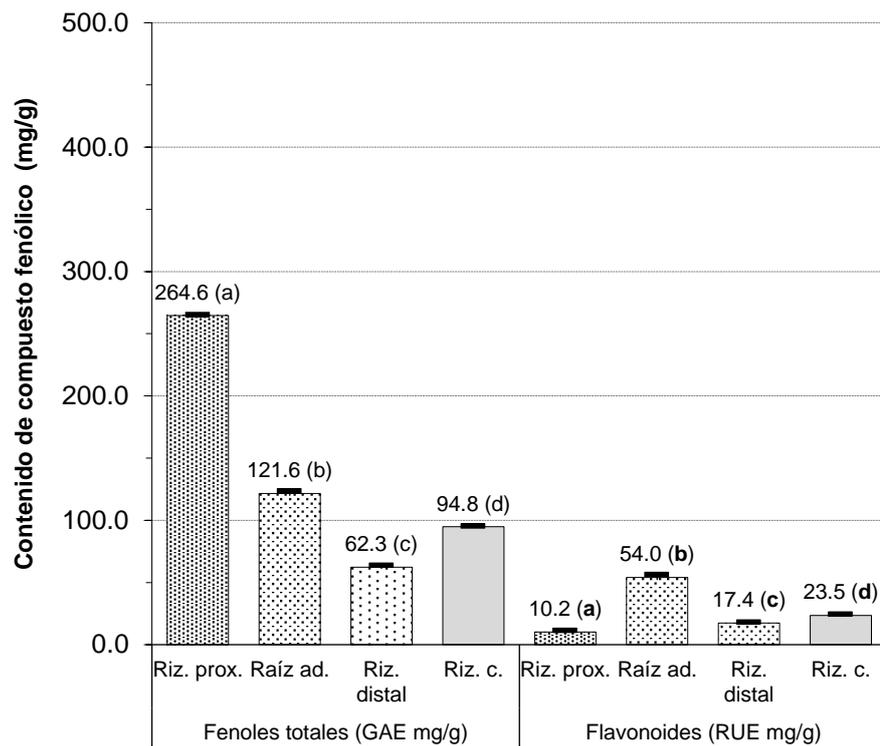
### **3.6. Análisis estadístico**

Los datos obtenidos fueron procesados y analizados mediante el programa Microsoft Excel y fueron expresados en promedios, presentados en tablas y figuras. Se realizó el análisis de varianza para identificar diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) del contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante los diferentes tratamientos, aplicándose ANOVA y comparaciones múltiples con la prueba de Tukey<sup>67</sup>, empleando el programa SPSS.

### **III. RESULTADOS**

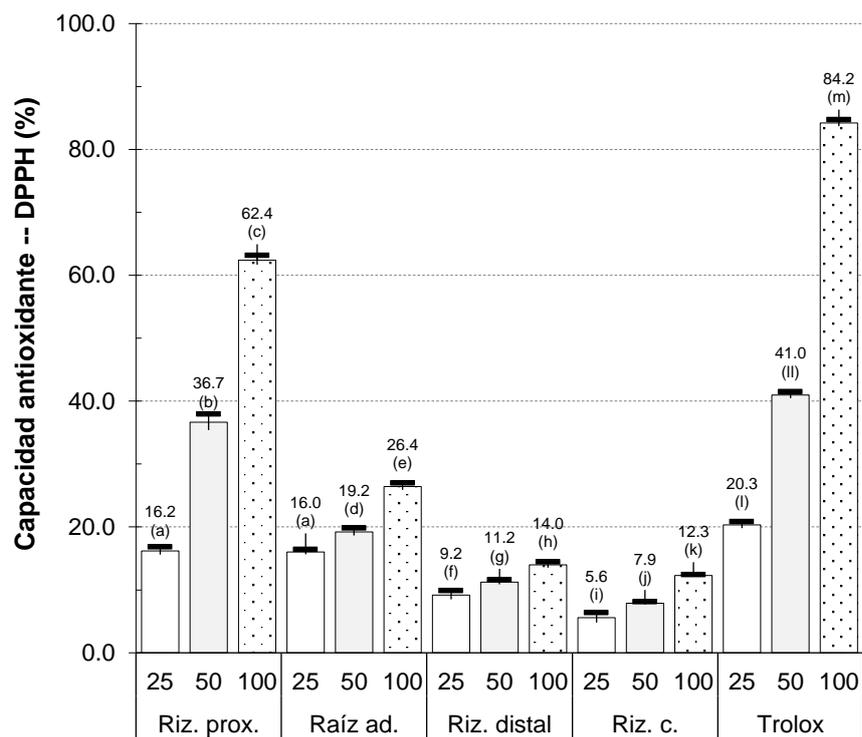
**Tabla 1.** Metabolitos secundarios presentes en los rizomas de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger

<b>Ensayos</b>	<b>Metabolitos</b>	<b>Identificación</b>	<b>Intensidad</b>
Ensayo de cloruro férrico	Compuestos fenólicos y/o taninos	+	+++
Ensayo de catequinas	Catequinas	+	
Ensayo de resinas	Resinas	-	-
Ensayo de Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o esteroides	+	++
Ensayo de espuma	Saponinas	+	+++
Ensayo de ninhidrina	Aminoácidos	+	++
Ensayo de Borntrager	Quinonas	+	+
Ensayo de Shinoda	Flavonoides	+	+++
Ensayo de Kedde	Glucósidos cardiotónicos	+	+
Ensayo de Dragendorff	Alcaloides	-	-
Ensayo de Mayer	Alcaloides	-	-
Ensayo de Wagner	Alcaloides	-	-



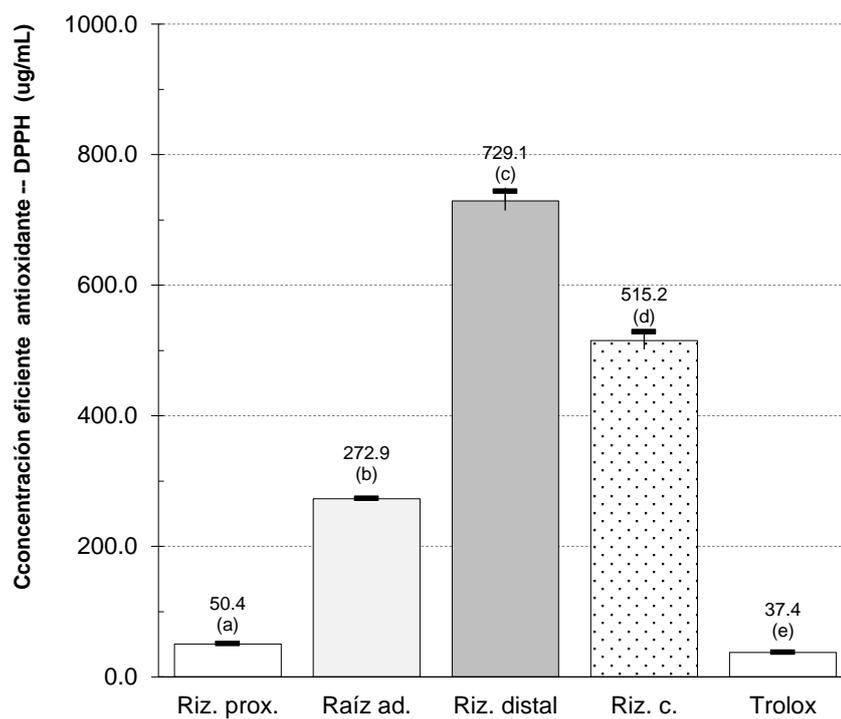
Nota: Riz. prox. (Rizoma proximal), Raíz ad. (Raíz adventicia), Riz. distal (Rizoma distal), Riz. c. (Rizoma completo). (a, b, c, d: Prueba de comparaciones múltiples de Tukey; p valor < 0,05)

**Figura 2.** Contenido de compuestos fenólicos en el rizoma de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger



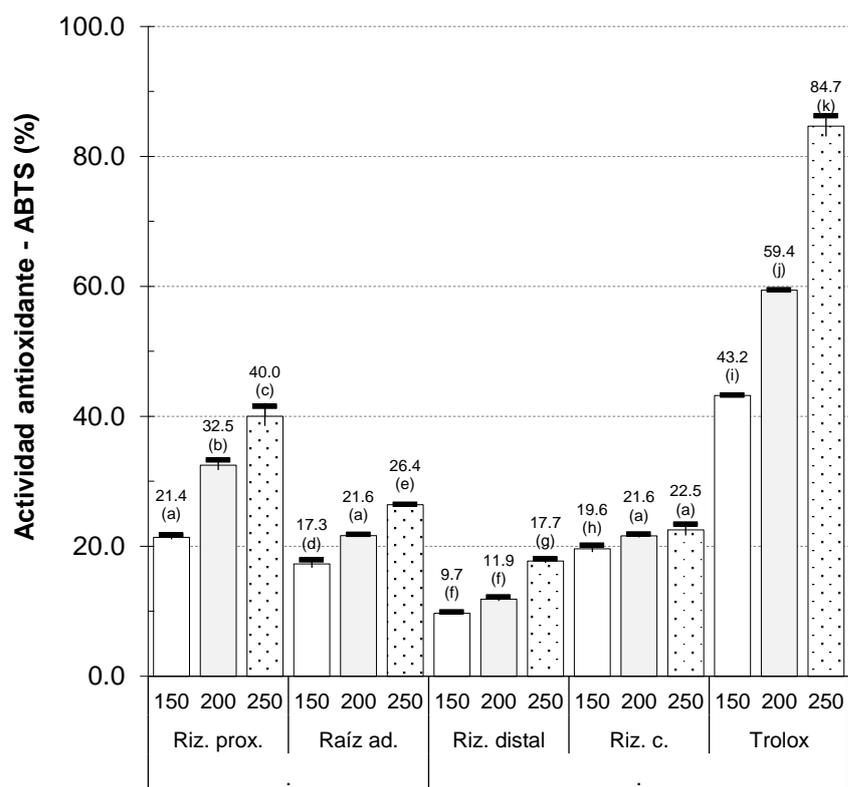
Nota: Riz. prox. (Rizoma proximal), Raíz ad. (Raíz adventicia), Riz. distal (Rizoma distal), Riz. c. (Rizoma completo). (a, b, c, d: Prueba de comparaciones múltiples de Tukey; p valor < 0,05)

**Figura 3.** Actividad antioxidante por el método DPPH del rizoma de *Nipidium crassifolium* (L.) Lellinger



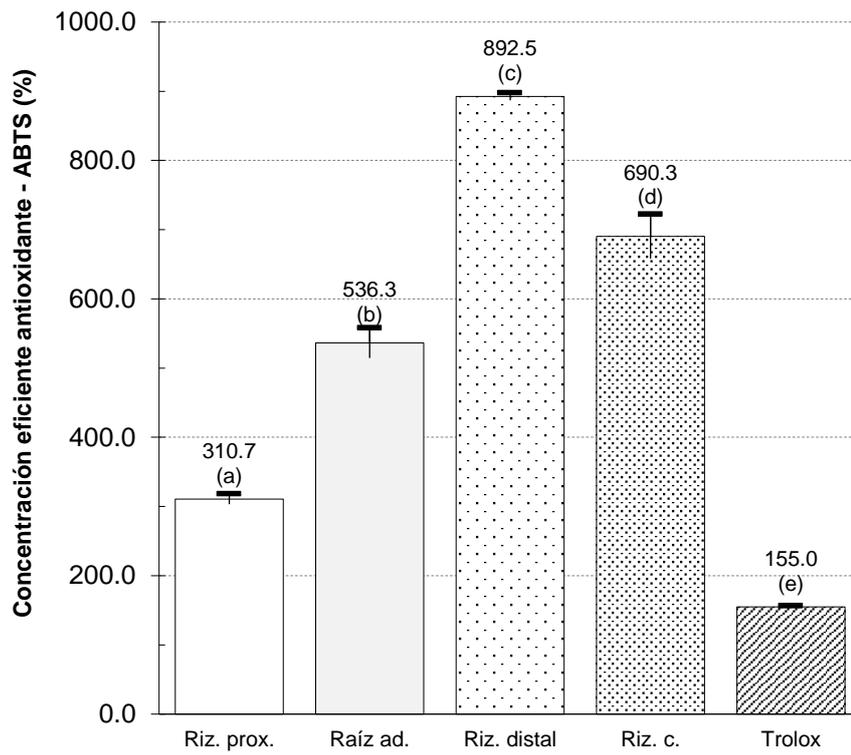
Nota: Riz. prox. (Rizoma proximal), Raíz ad. (Raíz adventicia), Riz. distal (Rizoma distal), Riz. c. (Rizoma completo). (a, b, c, d: Prueba de comparaciones múltiples de Tukey; p valor < 0,05)

**Figura 4.** Concentración eficiente antioxidante por el método DPPH del rizoma de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger



Nota: Riz. prox. (Rizoma proximal), Raíz ad. (Raíz adventicia), Riz. distal (Rizoma distal), Riz. c. (Rizoma completo). (a, b, c, d: Prueba de comparaciones múltiples de Tukey; p valor < 0,05)

**Figura 5.** Actividad antioxidante por el método ABTS del rizoma de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger



Nota: Riz. prox. (Rizoma proximal), Raíz ad. (Raíz adventicia), Riz. distal (Rizoma distal), Riz. c. (Rizoma completo). (a, b, c, d: Prueba de comparaciones múltiples de Tukey; p valor < 0,05)

**Figura 6.** Concentración eficiente antioxidante por el método ABTS del rizoma de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger

**Tabla 2.** Determinación de los compuestos químicos de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger mediante LC-MS/MS

N°	T <sub>R</sub> (min)	MS-ESI-	MS <sup>2</sup>	MS-ESI+	MS <sup>2</sup>	Masa nominal	Fórmula molecular	Estructura tentativa
1	1,63	341,1089	179,0555 161,0449 119,0341 113,0235 101,0235 89,0234 71,0128 59,0128			342	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	Disacárido
2	1,66	195,0554	177,0399 159,0293 129,0185 99,0078 87,0077 75,0077			196	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	Ácido glucorónico
3	1,70	191,0555	173,0449 127,0392 111,0442 93,0335 85,0284			174	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	Ácido quínico
4	1,87	133,0134	115,0027 89,0234 72,9920 71,0128			134	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	Ácido málico
5	4,82	341,0879	179,0344 135,0443			342	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	Hexósido de ácido cafeico
6	7,87	327,1089	165,0551 147,0445 119,0341 113,0234 101,0235 89,0234 71,0128 59,0128			328	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>8</sub>	Dihidromelilotósido
7	9,06	415,1616	293,0885 233,0661 191,0558 149,0450 131,0341 113,0236			416	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>10</sub>	Feniletanol-2-O-[pentosil-(1→2)-hexósido]



			431,3177		415,3202			
			143,0343		271,2053			
			119,0342		253,1948			
			113,0236		157,1011			
			101,0235		129,0547			
			89,0235					
13	11,77	1075,5350 [M-FA-H]	883,4688	1048,5680 [M-H <sub>2</sub> O-H]	869,4901	1030	C <sub>51</sub> H <sub>82</sub> O <sub>21</sub>	Furosta-5,20(22)-dieno-3,26-diol 3-O- [desoxihexósido -(1→2)- [desoxihexósido -(1→4)]-hexósido], 26-O-hexósido
			723,5897		723,4279			
			497,3868		577,3738			
			205,0714		415,3197			
			143,0342		253,1947			
			119,0342		157,1009			
			113,0235		129,0543			
			101,0236					
14	14,69	287,2230	269,2125			288	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	Ácido 10,16-dihidroxihexadecanoico
			241,2173					
			185,1543					
			155,1435					
			115,0756					
			85,0649					
15	15,05			373,1279	358,1043	372	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	Tangeritina
					343,0810			
					328,0575			
					315,0863			
					297,0754			
					271,0599			
					229,0329			
					211,0235			
					183,0288			
16	17,38	250,1448	234,1135					Desconocida
17	18,69	339,2329	183,0115					Desconocida
			163,1122					

#### IV. DISCUSIÓN

La presente investigación tiene como objetivo determinar el perfil químico y el potencial antioxidante del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L., una especie nativa de la región de Ayacucho, con escasos estudios científicos. Actualmente se tiene reportes de estudios de *N. crassifolium* recolectados en los departamentos de Chiclayo, Ancash, Piura en el Perú<sup>10,11,13</sup> y del Parque Nacional de Itatiaia<sup>12</sup> en Brasil. Asimismo, se tiene reportes de estudios sobre la composición fitoquímica preliminar,<sup>13</sup> efecto cicatrizante,<sup>13</sup> antifúngica<sup>12</sup> y antiproliferativa<sup>10</sup> de esta especie.

En base a los antecedentes, se planteó la presente investigación que tuvo como objetivo identificar los metabolitos secundarios presentes en los rizomas de *Niphidium crassifolium* L., cuantificar el contenido fenoles totales y flavonoides y evaluar su actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico; así como identificar los compuestos químicos de los rizomas a través del perfil químico por LC-MSM.

Respecto a la identificación fitoquímica preliminar en los rizomas de *N. crassifolium*, se evidenció la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos, catequinas, triterpenos y/o esteroides, saponinas, aminoácidos, quinonas, flavonoides y glicósidos cardiotónicos (Tabla 1). Los resultados se contrastan con lo reportado por Vargas,<sup>13</sup> quien identificó la presencia de flavonoides, taninos y quinonas en *N. crassifolium*. Los resultados también son coherentes con lo evidenciado en especies que pertenecen al mismo género, tal es el caso de *Polypodium leucotomos*, una especie ampliamente estudiada, en el que se identificó la presencia de saponinas y compuestos fenólicos,<sup>17,18</sup> entre otros.

Una vez confirmado la presencia de compuestos fenólicos, se procedió a la cuantificación del contenido de fenoles totales (TPC) y flavonoides (TFC). Se evaluó el TPC y TFC tanto en el rizoma completo (Riz. c.), como en diferentes secciones del rizoma, tales como, rizoma proximal (Riz. prox.), rizoma distal (Riz.

distal) y raíz adventicia (Raíz ad.). La decisión de analizar también las secciones del rizoma es por la coloración diferenciada que se evidenció en el rizoma. En la Figura 2, se presentan los resultados de la cuantificación de TPC y TFC, en el que se ha determinado que el rizoma de *N. crassifolium* presenta un TPC de  $94,8 \pm 0,1$  mgGAE/g de extracto seco; sin embargo, el rizoma proximal presenta un contenido de TPC de  $264,6 \pm 0,2$  mgGAE/g estadísticamente superior ( $p < 0,05$ ) al rizoma completo y las demás secciones del rizoma (Anexo 4 y 7). Respecto al contenido de flavonoides se ha evidenciado que la raíz adventicia presenta un contenido de TFC de  $54,1 \pm 0,6$  mgRUE/g de extracto seco, valor estadísticamente superior ( $p < 0,05$ ) al rizoma completo y a las demás secciones del rizoma (Figura 2, Anexo 4 y 7).

La actividad antioxidante del extracto seco de *N. crassifolium* se evaluó a las concentraciones de 25 a 250  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 3) y se comparó con la actividad antioxidante del Trolox a las mismas concentraciones, tanto con el método de DPPH, ABTS y FRAP. Asimismo, la actividad antioxidante fue reportada como concentración eficiente antioxidante ( $\text{CE}_{50}$ ), calculado de la relación de la variación del porcentaje de actividad antioxidante en función de la concentración del extracto, que igualmente fue comparado con el  $\text{CE}_{50}$  del Trolox. Cabe mencionar que el valor de  $\text{CE}_{50}$  es inversamente proporcional a la actividad antioxidante, vale decir, a menor valor de  $\text{CE}_{50}$  mayor es la actividad antioxidante.

De la evaluación de la actividad antioxidante por el método DPPH, se evidencia que el extracto seco del rizoma proximal presenta un porcentaje de actividad antioxidante de  $83,4 \pm 0,07\%$  a una concentración de 250  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 3), estadísticamente superior al rizoma y sus diferentes secciones y concentraciones ( $p < 0,05$ ); aunque estadísticamente menor al Trolox a las concentraciones de 150 a 250  $\mu\text{g/mL}$  ( $p < 0,05$ ) (Anexo 9 y 12). Así mismo, la concentración eficiente antioxidante ( $\text{CE}_{50}$ ) del rizoma proximal es de  $50,4 \pm 0,01$   $\mu\text{g/mL}$ , valor estadísticamente menor al rizoma y las otras secciones del rizoma ( $p < 0,05$ ), aunque estadísticamente mayor al Trolox que presentó un valor de  $37,4 \pm 0,02$   $\mu\text{g/mL}$  (Figura 4, Anexo 13 y 16).

De la evaluación de la actividad antioxidante por el método ABTS, se evidencia que el extracto seco del rizoma proximal presenta un porcentaje de actividad antioxidante de  $40,0 \pm 0,4\%$  a una concentración de 250  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 5), estadísticamente superior al rizoma y sus diferentes secciones y concentraciones ( $p < 0,05$ ); aunque estadísticamente menor al Trolox a las concentraciones de 150

a 250 µg/mL ( $p < 0,05$ ) (Anexo 17 y 20). Así mismo, la concentración eficiente antioxidante ( $CE_{50}$ ) del rizoma proximal es de  $310,7 \pm 1,9$  µg/mL, valor estadísticamente menor al rizoma y las otras secciones del rizoma ( $p < 0,05$ ), aunque estadísticamente mayor al Trolox que presentó un valor de  $150,0 \pm 0,3$  µg/mL (Figura 6, Anexo 21 y 24).

La identificación de los metabolitos secundarios presentes en los rizomas de *Niphidium crasifolium* fue realizado mediante espectrometría de masas en tándem, empleando un sistema LC acoplado a un espectrómetro de masas híbrido cuadrupulo-orbitrap.

Mediante un análisis no dirigido, empleando la técnica de LC-MS/MS, se logró detectar la presencia de 17 metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de los rizomas de *N. crasifolium*. El análisis fue realizado en modo positivo y negativo. Cada ión monoisotópico obtenido fue fragmentado para permitir su mejor caracterización.

La identificación de los metabolitos presentes en *N. crasifolium* fue realizado por comparación de los tiempos de retención y la huella de masas de cada ión monoisotópico detectado. Mediante este mecanismo se identificaron 14 metabolitos de los 17 detectados.

De acuerdo con el análisis realizado, la huella metabólica de los rizomas de *N. crasifolium* está constituido por un 17,6% de glicósidos fenólicos, 5,9% de disacáridos, 23,5% de saponinas, 11,8% de fitoecdisteroides, 11,8% de ácidos orgánicos, 5,9% de ácido quínico, 5,9% de flavonas, 5,9% de ácidos grasos y 11,8% de compuestos que no pudieron ser identificados (Tabla 2).

El ión positivo 905.599 (M+H)<sup>+</sup> obtenido en el tiempo de retención 10,47, tiene los iones fragmento 725, 579, 399, 381,271, 253 y 129. Los iones fragmento 271 y 253 fueron también detectados como parte de los iones fragmento de las saponinas detectadas en los tiempos de retención de 10,76 y 10,84. Así mismo la diferencia de masas entre los iones 725 y 579, resulta ser 146, lo cual representa la pérdida de un residuo de deoxihexosa. Con lo cual se infiere que el ion 905.599, corresponde a una saponina, lo cual debe ser verificado con un análisis posterior. Dos de las técnicas de post procesamiento de datos de espectrometría de masas son el filtro de fragmentos característicos y el filtro de pérdida de neutrales. El filtro de fragmentos característicos se basa en el análisis de compuestos con estructuras de núcleo madre iguales o similares y que pueden producir patrones

de fragmentación característicos en las mismas condiciones espectrométricas, tal información es usada para identificar el compuesto.<sup>68</sup>

El patrón de fragmentación característico de las saponinas, así como el análisis de los residuos de azúcar de la aglicona, han permitido la identificación de este tipo de moléculas en diferentes matrices vegetales.<sup>68-72</sup>

*N. crasifolium* es un helecho perteneciente a la familia Polypodeaceae, reportes previos han descrito la presencia de terpenoides y compuestos fenólicos en los rizomas de esta especie,<sup>12</sup> mientras que en la familia Polypodeaceae se han detectado compuestos fenólicos, ácido shikímico, derivados del ácido cafeoilquinico, flavonoides y fitoecdisteroides.<sup>73-75</sup>

Las plantas son capaces de biosintetizar una miriada de moléculas con estructuras químicas diversas y amplio rango de actividad biológica, con potencial uso en medicina, química fina, farmacia y biotecnología. Todos estos metabolitos especializados son el producto de la interacción de las plantas con su entorno y la evolución de su maquinaria biosintética para sobrevivir y reproducirse. Una de estas especies es *N. crasifolium*. El análisis del perfil de metabolitos de esta especie indica que posee un elevado porcentaje de terpenoides (saponinas y fitoecdisteroides).

Los terpenoides juegan un rol importante como mecanismo de defensa de las plantas frente al stress abiótico y biótico y como moléculas de señalización para atraer a los insectos. Estas moléculas cumplen un rol importante en la interacción de las plantas con su entorno, por lo que la innovación de la biosíntesis de los terpenoides ha permitido su adaptación.<sup>76,77</sup>

Uno de los terpenoides identificados en *N. crasifolium* es crustecdysone, un fitoecdisteroide hallado en la familia Polypodiaceae.<sup>74</sup> Los fitoecdisteroides, son biosintetizados como mecanismo de defensa de las plantas frente a los fitófagos y actúan también como disruptores endocrinos, estimulantes del crecimiento de plantas y aleloquímicos.<sup>75</sup> Este tipo de moléculas tiene un importante potencial farmacológico como hepatoprotector, hipoglicemiante, anabólico, antibacterial, antifúngico, antiinflamatorio, anticolinesterasa y antitumoral.<sup>74</sup>

El análisis realizado a los rizomas de *N. crasifolium* reveló también la presencia de glicósidos fenólicos (caffeic acid hexoside, dihydromelilotoside, phenylethanol-2-O-[pentosyl-(1→2)-hexoside]). La presencia de compuestos fenólicos ha sido detectada en esta especie en trabajos previos.<sup>12</sup>

El ácido cafeico y sus derivados tienen potencial antioxidante, antiinflamatorio y anticancerígeno.<sup>78</sup> Por tanto, se puede aseverar que los compuestos fenólicos presentes en esta planta lo convierten en una especie promisoría con importante potencial antioxidante.

Otro metabolito que destaca por su importante actividad biológica es el ácido quínico. Derivados de este metabolito han sido hallados en la familia polipodiaceae.<sup>73</sup> El ácido quínico es una importante molécula con actividad antiinflamatoria<sup>79</sup> y antibacteriana.<sup>80</sup>

El análisis del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *N. crasifolium*, revela también la presencia de 2 iones en los tiempos de retención de 17,38 y 18,69 (Tabla 2) ambos con poca fragmentación, por lo cual no han podido ser identificados, requiriéndose un análisis posterior dirigido, el cual debe involucrar procesos de separación previos y análisis por RMN.

## V. CONCLUSIONES

1. Los rizomas de *Niphidium crassifolium* L. contiene metabolitos secundarios, tales como, compuestos fenólicos y/o taninos, catequinas, triterpenos y/o esteroides, saponinas, aminoácidos, quinonas, flavonoides y glicósidos cardiotónicos.
2. El rizoma de *N. crassifolium* L. presenta un contenido de fenoles totales de 94,8 mgGAE/g de extracto seco y el rizoma proximal contiene  $264,6 \pm 0,2$  mgGAE/g de extracto; asimismo, el contenido de flavonoides en la raíz adventicia del rizoma presenta un contenido de flavonoides de  $54,1 \pm 0,6$  mgRUE/g de extracto seco.
3. El rizoma de *N. crassifolium* L. presenta actividad antioxidante evaluados por los métodos in vitro DPPH y ABTS, aunque con valores de porcentaje de actividad antioxidante y concentración eficiente estadísticamente menores al Trolox.
4. El rizoma de *N. crassifolium* está constituido mayoritariamente por saponinas, fitoecdisteroides, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar el fraccionamiento del extracto de rizomas de *N. niphidium* para identificar los compuestos fenólicos responsables de la actividad antioxidante.
2. Realizar estudios espectroscópicos más exhaustivos para identificar el 11,8% de compuestos que no pudieron ser identificados.
3. Realizar estudios de la composición química de las hojas de *N. niphidium*, así como evaluar la actividad antioxidante y fotoprotectora tanto de hojas como del rizoma.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Vásquez-Ocmín P, Cojean S, Rengifo E, Suyyagh-Albouz S, Guerra CAA, Pomel S, et al. Antiprotozoal activity of medicinal plants used by Iquitos-Nauta road communities in Loreto (Peru). *J Ethnopharmacol.* 2018;210:372–85.
2. Huaraca Aparco R, Delgado Laime MDC, Tapia Tadeo F, Nolasco Carbajal G. Perfil químico y actividad antioxidante de aceites esenciales de hierbas aromáticas altoandinas del Perú. *Alfa Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinaria.* 2021;5(14):153–65.
3. Tian X, Schaich KM. Effects of molecular structure on kinetics and dynamics of the trolox equivalent antioxidant capacity assay with ABTS+•. *J Agric Food Chem.* 2013;61(23):5511–9.
4. Shahidi F, Zhong Y, Ambigaipalan P. Antioxidants: regulatory status. *Bailey's industrial oil and fat products.* 2005;1:491–512.
5. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem.* 2005;53(6):1841–56.
6. Luengo MTL. Plantas medicinales de aplicación en dermofarmacia. *Offarm: farmacia y sociedad.* 2003;22(11):122–5.
7. Fuentes Lorenzo JL. Las plantas como fuente de compuestos fotoprotectores frente al daño en el ADN producido por la radiación ultravioleta. *Rev Acad Colomb Cienc Exactas Fis Nat.* 2019;43(168):550–62.
8. Metro D, Muraca U, Manasseri L. Ruolo del tè verde nella prevenzione dello stress ossidativo [Role of green tea in oxidative stress prevention]. *Clin Ter.* 2006;157(6):507–10.
9. Pigni N, Aranibar C, Martínez M, Ribotta P, Aguirre A, Borneo R, et al. Actividad antioxidante y perfil químico de compuestos fenólicos en pastas de trigo suplementadas con harina parcialmente deslipidizada de chía. 2017;
10. Carraz M, Lavergne C, Jullian V, Wright M, Gairin JE, Gonzales de la Cruz M, et al. Antiproliferative activity and phenotypic modification induced by selected Peruvian medicinal plants on human hepatocellular carcinoma Hep3B cells. *J Ethnopharmacol.* 2015 May;166:185–99.
11. Garcés Paucar KL. Etnobotánica en los caseríos de Agua Blanca y Pampa Minas, Distrito de Canchaque, Huancabamba-Piura. 2017;

12. Rorigues Lancelloti I. A importância socioambiental de novos antifúngicos: O potencial das samambaias. [São Gonçalo]: Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2018.
13. Vargas Carbajal CJ. Identificación de metabolitos secundarios y evaluación del efecto antiinflamatorio y cicatrizante del extracto etanólico de rizomas de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger “Calaguala” [Tesis doctoral]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2022.
14. Collaguazo Ushiña VL. Estudio de la etnofarmacología, fitoquímica y actividades biológicas de la especie *Polypodium leucotomos* por Lamarck [Tesis de pregrado]. [Ecuador]: Universidad Central de Ecuador; 2022.
15. Font Quer P. Plantas medicinales: el dioscorides renovado. 1985.
16. Rodríguez Yanes E. Efectos del extracto de *Polypodium leucotomos* sobre la tumorigénesis inducida por la radiación ultravioleta [Tesis doctoral]. [España]: Universitat Rovira i Virgili; 2011.
17. Horvath A, Alvarado F, Szöcs J, de Alvarado ZN, Padilla G. Metabolic effects of calagualine, an antitumoral saponine of *Polypodium leucotomos*. *Nature*. 1967;214:1256–8.
18. Garcia F, Pivel JP, Guerrero A, Brieva A, Martinez-Alcazar MP, Caamano-Somoza M, et al. Phenolic components and antioxidant activity of Fernblock (R), an aqueous extract of the aerial parts of the fern *Polypodium leucotomos*. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2006;28(3):157–60.
19. Gombau L, Garcia F, Lahoz A, Fabre M, Roda-Navarro P, Majano P, et al. *Polypodium leucotomos* extract: antioxidant activity and disposition. *Toxicology in vitro*. 2006;20(4):464–71.
20. Kohli I, Shafi R, Isedeh P, Griffith JL, Al-Jamal MS, Silpa-Archa N, et al. The impact of oral *Polypodium leucotomos* extract on ultraviolet B response: a human clinical study. *J Am Acad Dermatol*. 2017;77(1):33–41.
21. Mei TMS, Brandão BJB. *Polypodium leucotomos* na fotoproteção oral. *BWS Journal*. 2021;4:1–9.
22. Bhatia N. *Polypodium leucotomos*: a potential new photoprotective agent. *Am J Clin Dermatol*. 2015;16:73–9.
23. Parrado C, Mascaraque M, Gilaberte Y, Juarranz A, Gonzalez SF. Molecular mechanisms and pleiotropic effects in light-related skin conditions, photoaging and skin cancers, a Review. *Int J Mol Sci*. 2016;17:1026.

24. Zamarrón A, Lorrio S, González S, Juarranz Á. Fernblock prevents dermal cell damage induced by visible and infrared A radiation. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8):2250.
25. Schalka S, Vitale-Villarejo MA, Agelune CM, Bombarda PCP. Benefícios do uso de um composto contendo extrato de polypodium leucotomos na redução da pigmentação e do eritema decorrentes da radiação ultravioleta. *Surgical & Cosmetic Dermatology*. 2014;6(4):344–8.
26. Aguilera P, Carrera C, Puig-Butille JA, Badenas C, Lecha M, González S, et al. Benefits of oral Polypodium leucotomos extract in MM high-risk patients. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2013;27(9):1095–100.
27. Ramírez-Bosca A, Zapater P, Betlloch I, Albero F, Martínez A, Díaz-Alperi J, et al. Polypodium leucotomos extract in atopic dermatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*. 2012;103(7):599–607.
28. Tanew A, Radakovic S, Gonzalez S, Venturini M, Calzavara-Pinton P. Oral administration of a hydrophilic extract of Polypodium leucotomos for the prevention of polymorphic light eruption. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(1):58–62.
29. Parrado C, Juarranz A, Gilaberte Y, Philips N, Gonzalez S. Fern Extract, Oxidative Stress, and Skin Cancer. In: *Cancer*. Elsevier; 2014. p. 255–64.
30. El-Haj N, Goldstein N. Sun protection in a pill: the photoprotective properties of P olypodium leucotomos extract. *Int J Dermatol*. 2015;54(3):362–6.
31. Szczurko O, Boon HS. A systematic review of natural health product treatment for vitiligo. *BMC Dermatol*. 2008;8(1):1–12.
32. Choudhry SZ, Bhatia N, Ceilley R, Hougeir F, Lieberman R, Hamzavi I, et al. Role of oral Polypodium leucotomos extract in dermatologic diseases: a review of the literature. *J Drugs Dermatol*. 2014;13(2):148–53.
33. Thompson KG, Kim N. Dietary supplements in dermatology: A review of the evidence for zinc, biotin, vitamin D, nicotinamide, and Polypodium. *J Am Acad Dermatol*. 2021;84(4):1042–50.
34. Sánchez-Rodríguez C, Cruces KRP, Riesco LR, García-Vela JA, Sanz-Fernández R. Immunomodulatory effect of Polypodium leucotomos (Anapsos) in child palatine tonsil model. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2018;107:56–61.

35. Sempere-Ortells JM, Campos A, Velasco I, Marco F, Ramirez-Bosca A, Diaz J, et al. Anapsos (*Polypodium leucotomos*) modulates lymphoid cells and the expression of adhesion molecules. *Pharmacol Res.* 2002;46(2):185–90.
36. Nogal-Ruiz JJ, Gomez-Barrio A, Escario JA, Martinez-Fernandez AR. Effect of Anapsos® in a murine model of experimental trichomoniasis. *Parasite.* 2003;10(4):303–8.
37. Solivellas BM, Martín TC. *Polypodium leucotomos* Extract use to prevent and reduce the risk of infectious diseases in high performance athletes. *Infect Drug Resist.* 2012;149–53.
38. Gálvez J, Sánchez de Medina F, Romero JA, Zarzuelo A. Effect of *Polypodium leucotomos* on acute, chronic and reactivated trinitrobenzene sulphonic acid colitis in rats. *Inflammopharmacology.* 2000;8:89–105.
39. Auriemma M, di Nicola M, Gonzalez S, Piaserico S, Capo A, Amerio P. *Polypodium leucotomos* supplementation in the treatment of scalp actinic keratosis: could it improve the efficacy of photodynamic therapy? *Dermatologic Surgery.* 2015;41(8):898–902.
40. MTH. Yerba del lagarto / Calahuala. *Medicamentos Herbarios Tradicionales.* :215–6.
41. Queral J. Calaguala, propiedades y beneficios de la planta medicinal. *Herbolario Casa Pià.* 2014;
42. Mostacero León J, Castillo Picón F, Mejía Coico FR, Gamarra Torres OA, Charcape Ravelo JM, Ramírez Vargas RA. *Plantas medicinales del Perú. Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica.* 1ra ed. Asamblea Nacional de Rectores Fondo Editorial, editor. Perú; 2011.
43. Bussmann RW, Sharon D. *Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía-La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. Ethnobotany Research and Applications.* 2016;15(1):1–293.
44. Medina Huamán KD, Echaiz Veliz M de los M. Actividad antioxidante y fotoprotectora UVB in vitro de una crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* Lf (sacha papa morada). 2019;
45. Corrales LC, Muñoz Ariza MM. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova.* 2012;10(18):213–25.

46. Michniak-Kohn B, Leonardi GR. An overview about oxidation in clinical practice of skin aging. *An Bras Dermatol*. 2017;92:367–74.
47. Surowiak P, Gansukh T, Donizy P, Halon A, Rybak Z. Increase in cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in keratinocytes and dermal fibroblasts in photoaged skin. *J Cosmet Dermatol*. 2014;13(3):195–201.
48. Cadenas E. Mechanisms of antioxidant action. *Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Pathological and Physiological Significance*. 1998;237–51.
49. Cardeño ÁV, Molina MC, Miranda I, García GT, Morales JM, Stashenko EE. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia Sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*. *Scientia et Technica*. 2007;13(33):205–7.
50. García JR, de La Rosa LA, González-Barrios AG, Herrera-Duenez B, López-Díaz JA, González-Aguilar GA, et al. Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en Ciudad Juárez, México. *Tecnociencia Chihuahua*. 2011;5(2):67–75.
51. Castaño Amores C, Hernández Benavides PJ. Activos antioxidantes en la formulación de productos cosméticos antienvjecimiento. *Ars Pharmaceutica (Internet)*. 2018;59(2):77–84.
52. San-Miguel A, Martin-Gil FJ. Importancia de las especies reactivas al oxígeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gaceta Médica de Bilbao*. 2009;106(3):106–13.
53. Moreno MI, Moreno LH. Fotoprotección. *Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*. 2010;18:31-39.
54. Khatoon M, Islam E, Islam R, Rahman AA, Alam AHMK, Khondkar P, et al. Estimation of total phenol and in vitro antioxidant activity of *Albizia procera* leaves. *BMC Res Notes*. 2013;6:1–7.
55. Seto Y, Ohtake H, Sato H, Onoue S. Phototoxic risk assessment of dermally-applied chemicals with structural variety based on photoreactivity and skin deposition. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2020;113:104619.
56. Taylor JH, Rosen CF. Correction to: Systemic Photoprotection. *Curr Dermatol Rep*. 2020;9(4):362.

57. Dunaway S, Odin R, Zhou L, Ji L, Zhang Y, Kadekaro AL. Natural antioxidants: multiple mechanisms to protect skin from solar radiation. *Front Pharmacol.* 2018;392.
58. Smijs TG, Pavel S. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *Nanotechnol Sci Appl.* 2011;95–112.
59. Nestor MS, Berman B, Swenson N. Safety and efficacy of oral *Polypodium leucotomos* extract in healthy adult subjects. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2015;8(2):19.
60. Serini S, Guarino R, Ottes Vasconcelos R, Celleno L, Calviello G. The Combination of Sulforaphane and Fernblock® XP Improves Individual Beneficial Effects in Normal and Neoplastic Human Skin Cell Lines. *Nutrients.* 2020;12(6):1608.
61. Cibrián RKH, Sutherland CHN. *Etnobotánica de los Helechos de Honduras.* Ceiba. 2007;48(1–2):1–10.
62. Lock de Ugaz O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales.* 2da ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica el Perú; 1994.
63. Miranda M, Cuéllar A. *Farmacognosia y productos naturales.* La Habana: Editorial Félix Varela. 2001;141.
64. Sousa CM de M, Rocha e Silva H, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, da Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova.* 2007;30(2):351–5.
65. Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas MA, Verde-Star MJ. *Investigación en plantas de importancia médica.* Investigación en plantas de importancia médica. México: OmniaScience; 2016.
66. Hernández R, Fernández C, Baptista P. *Metodología de la investigación.* 5a ed. México: McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. DE C.V.; 2010.
67. Daniel WW. *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud.* 3a ed. México: EDITORIAL LIMUSA. S.A de C.V.; 1991.
68. Shan L, Wu Y, Yuan L, Zhang Y, Xu Y, Li Y. Rapid Screening of Chemical Constituents in *Rhizoma Anemarrhenae* by UPLC-Q-TOF/MS Combined with Data Postprocessing Techniques. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2017;2017:1–14.

69. Khakimov B, Tseng L, Godejohann M, Bak S, Engelsen S. Screening for Triterpenoid Saponins in Plants Using Hyphenated Analytical Platforms. *Molecules*. 2016 Nov 24;21(12):1614.
70. Gevrenova R, Bardarov V, Bardarov K, Voutquenne-Nazabadioko L, Henry M. Selective Profiling of Saponins from *Gypsophila trichotoma* Wend. by HILIC Separation and HRMS Detection. *Phytochemical Analysis*. 2018 May;29(3):250–74.
71. Sun F, He Q, Shi P, Xiao P, Cheng Y. Characterization and identification of triterpenoid saponins in crude extracts from *Clematis* spp. by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization with multi-stage tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2007 Nov 30;21(22):3743–50.
72. Cui M, Song F, Zhou Y, Liu Z, Liu S. Rapid identification of saponins in plant extracts by electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2000 Jul 30;14(14):1280–6.
73. Farràs A, Mitjans M, Maggi F, Caprioli G, Vinardell MP, López V. *Polypodium vulgare* L. (Polypodiaceae) as a Source of Bioactive Compounds: Polyphenolic Profile, Cytotoxicity and Cytoprotective Properties in Different Cell Lines. *Front Pharmacol*. 2021 Sep 16;12.
74. Das N, Mishra SK, Bishayee A, Ali ES, Bishayee A. The phytochemical, biological, and medicinal attributes of phytoecdysteroids: An updated review. *Acta Pharm Sin B*. 2021 Jul;11(7):1740–66.
75. Lafont R, Balducci C, Dinan L. Ecdysteroids. *Encyclopedia*. 2021 Dec 1;1(4):1267–302.
76. Jia Q, Brown R, Köllner TG, Fu J, Chen X, Wong GKS, et al. Origin and early evolution of the plant terpene synthase family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022 Apr 12;119(15).
77. Singh B, Sharma RA. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. *3 Biotech*. 2015 Apr 29;5(2):129–51.
78. Espíndola KMM, Ferreira RG, Narvaez LEM, Silva Rosario ACR, da Silva AHM, Silva AGB, et al. Chemical and Pharmacological Aspects of Caffeic Acid and Its Activity in Hepatocarcinoma. *Front Oncol*. 2019 Jun 21;9.

79. Zeng K, Thompson KE, Yates CR, Miller DD. Synthesis and biological evaluation of quinic acid derivatives as anti-inflammatory agents. *Bioorg Med Chem Lett*. 2009 Sep;19(18):5458–60.
80. Bai J, Wu Y, Zhong K, Xiao K, Liu L, Huang Y, et al. A Comparative Study on the Effects of Quinic Acid and Shikimic Acid on Cellular Functions of *Staphylococcus aureus*. *J Food Prot*. 2018 Jul;81(7):1187–92.

## ANEXOS

## Anexo 1

Identificación taxonómica de *Niphidium crassifolium* L.

### CONSTANCIA

#### **LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:**

Que, el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de investigación.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Engler y Prantl, , siendo su taxonomía el siguiente:

DIVISIÓN	:	PTERIDOPHYTA
CLASE	:	PTERIDOPSIDA
ORDEN	:	POLYPODIALES
FAMILIA	:	POLYPODIACEAE
GENERO	:	Niphidium
ESPECIE	:	<b><i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger</b>
N.V.	:	"calahuala"

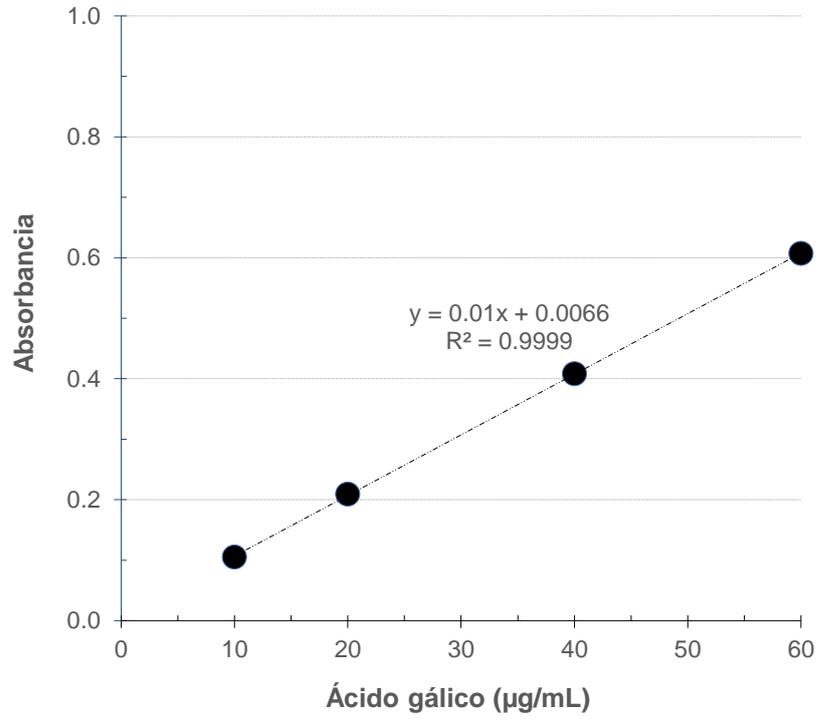
Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 16 de Enero del 2020

  
LAURA AUCASIME MEDINA  
BIÓLOGA  
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

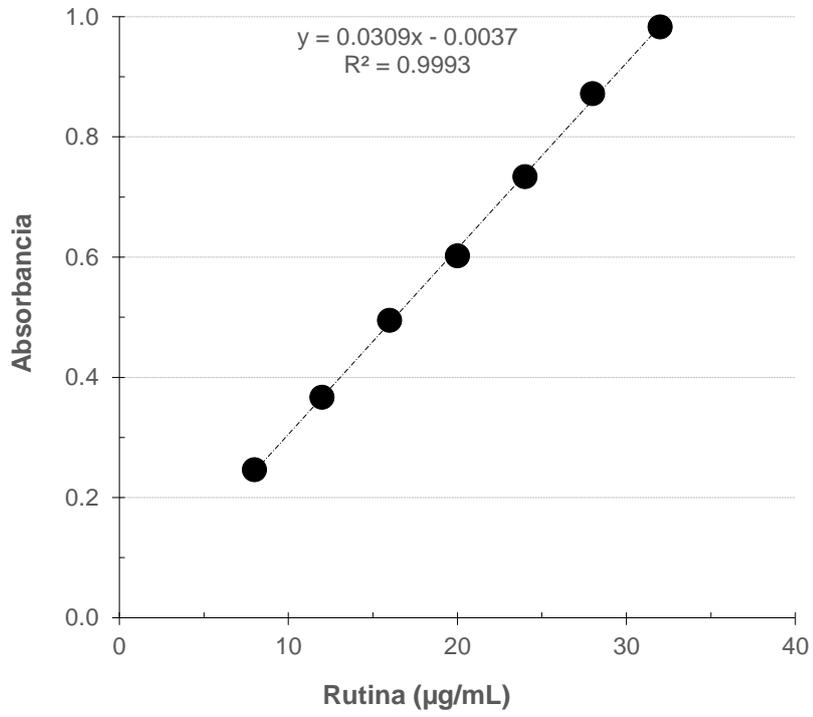
## Anexo 2

Curva de calibración de ácido gálico para cuantificar el contenido de compuestos fenólicos de *Niphidium crassifolium*



### Anexo 3

Curva de calibración de rutina para cuantificar del contenido de flavonoides de *Niphidium crassifolium*



#### Anexo 4

Datos descriptivos del contenido de compuestos fenólicos de *Niphidium crassifolium*

Compuesto fenólico	Parte del Rizoma	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
<b>TPC</b>	Rizoma proximal	3	264,6	0,3	0,2	263,8	265,4	264,3	264,9
	Raíz adventicia	3	121,6	0,9	0,5	119,3	123,8	120,5	122,1
	Rizoma distal	3	62,3	0,7	0,4	60,5	64,1	61,9	63,1
	Rizoma completo	3	94,8	0,2	0,1	94,4	95,3	94,6	94,9
	Total	12	135,8	80,7	23,3	84,5	187,1	61,9	264,9
<b>TFC</b>	Rizoma proximal	3	10,2	0,6	0,3	8,8	11,7	9,9	10,9
	Raíz adventicia	3	54,1	1,0	0,6	51,6	56,5	53,4	55,2
	Rizoma distal	3	17,4	0,3	0,2	16,6	18,1	17,1	17,7
	Rizoma completo	3	23,5	0,5	0,3	22,3	24,6	23,2	24,0
	Total	12	26,3	17,5	5,0	15,2	37,4	9,9	55,2

## Anexo 5

Prueba de homocedasticidad de los valores del contenido de compuestos fenólicos de *Niphidium crassifolium*

Compuesto fenólico		Estadístico de Levene	gl1	gl2	p-valor
<b>TPC</b>	Se basa en la media	4,7	3,0	8,0	0,04
	Se basa en la mediana	0,3	3,0	8,0	0,82
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,3	3,0	4,2	0,82
	Se basa en la media recortada	3,8	3,0	8,0	0,06
<b>TFC</b>	Se basa en la media	3,1	3,0	8,0	0,09
	Se basa en la mediana	0,3	3,0	8,0	0,84
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,3	3,0	4,9	0,84
	Se basa en la media recortada	2,6	3,0	8,0	0,13

## Anexo 6

Análisis de varianza de los valores del contenido de compuestos fenólicos de *Niphidium crassifolium*

Compuesto fenólico		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
TPC	Entre grupos	71642,0	3	23880,7	65419,0	6,8 E-18
	Dentro de grupos	2,9	8	0,4		
	Total	71645,0	11			
TFC	Entre grupos	3350,9	3	1117,0	2769,3	2,1 E-12
	Dentro de grupos	3,2	8	0,4		
	Total	3354,1	11			

## Anexo 7

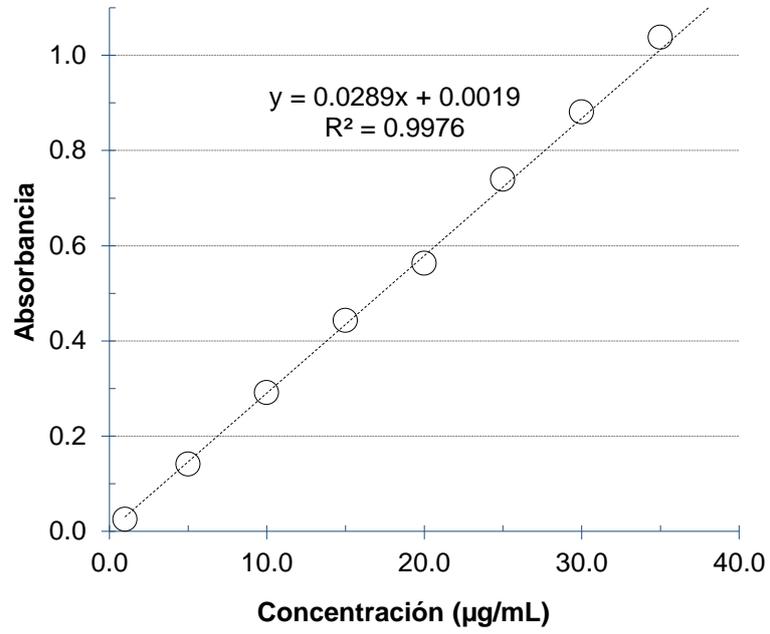
Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores del contenido de compuestos fenólicos de *Niphidium crassifolium*

TPC					
Parte del rizoma	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
Rizoma distal	3	62,3			
Rizoma completo	3		94,8		
Raíz adventicia	3			121,6	
Rizoma proximal	3				264,6
Sig.		1,0	1,0	1,0	1,0

TFC					
Parte del rizoma	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
Rizoma proximal	3	10,2			
Rizoma distal	3		17,4		
Rizoma completo	3			23,5	
Raíz adventicia	3				54,1
Sig.		1,0	1,0	1,0	1,0

### Anexo 8

Curva de calibración de DPPH para la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH de *Niphidium crassifolium*



## Anexo 9

Datos descriptivos de actividad antioxidante por el método DPPH de *Nipidium crassifolium*

Tratamiento	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
TX_25	3	20,43	0,10	0,06	20,18	20,68	20,33	20,53
TX_50	3	40,94	0,06	0,03	40,79	41,08	40,87	40,97
TX_100	3	84,31	0,10	0,06	84,06	84,56	84,21	84,41
TX_150	3	95,49	0,07	0,04	95,32	95,65	95,44	95,56
TX_200	3	95,71	0,05	0,03	95,59	95,84	95,67	95,77
TX_250	3	95,81	0,05	0,03	95,69	95,94	95,77	95,87
RP_25	3	16,19	0,30	0,17	15,46	16,93	15,88	16,47
RP_50	3	36,65	0,61	0,35	35,14	38,16	36,14	37,32
RP_100	3	62,40	0,36	0,21	61,50	63,30	62,09	62,80
RP_150	3	78,12	0,28	0,16	77,43	78,81	77,96	78,44
RP_200	3	83,18	0,12	0,07	82,89	83,46	83,06	83,29
RP_250	3	83,41	0,12	0,07	83,11	83,71	83,29	83,53
RA_25	3	16,03	0,19	0,11	15,57	16,49	15,84	16,21
RA_50	3	19,21	0,28	0,16	18,51	19,91	18,93	19,49
RA_100	3	26,43	0,25	0,14	25,81	27,05	26,24	26,71
RA_150	3	33,74	0,09	0,05	33,52	33,96	33,65	33,83
RA_200	3	40,68	0,25	0,14	40,06	41,30	40,49	40,96
RA_250	3	46,11	0,09	0,05	45,89	46,33	46,02	46,20
RIZ_D_25	3	9,18	0,34	0,20	8,33	10,02	8,80	9,46
RIZ_D_50	3	11,24	0,16	0,09	10,84	11,64	11,05	11,33
RIZ_D_100	3	13,98	0,21	0,12	13,45	14,51	13,86	14,23
RIZ_D_150	3	16,82	0,28	0,16	16,11	17,53	16,57	17,13
RIZ_D_200	3	19,54	0,30	0,18	18,78	20,29	19,19	19,76
RIZ_D_250	3	22,38	0,19	0,11	21,91	22,85	22,19	22,57
RIZ_C_25	3	5,59	0,38	0,22	4,64	6,53	5,16	5,89
RIZ_C_50	3	7,88	0,09	0,05	7,66	8,10	7,79	7,97
RIZ_C_100	3	12,29	0,05	0,03	12,16	12,42	12,23	12,32
RIZ_C_150	3	17,15	0,23	0,13	16,59	17,71	16,94	17,39
RIZ_C_200	3	21,65	0,16	0,09	21,26	22,04	21,56	21,83
RIZ_C_250	3	25,79	0,30	0,17	25,05	26,52	25,45	26,00

## Anexo 10

Prueba de homocedasticidad de los valores de la actividad antioxidante por el método DPPH de *Niphidium crassifolium*

	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
Se basa en la media	2,5	29	60,0	0,001
Se basa en la mediana	0,7	29	60,0	0,870
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,7	29	24,9	0,841
Se basa en la media recortada	2,3	29	60,0	0,003

## Anexo 11

Análisis de varianza de los valores de la actividad antioxidante por el método DPPH de *Niphidium crassifolium*

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Entre grupos	80706,8	29	2783,0	49361,6	3,1 E-121
Dentro de grupos	3,4	60	0,1		
Total	80710,2	89			

## Anexo 12

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores de la actividad antioxidante por el método DPPH de *Niphidium crassifolium*

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
RIZ_C_25	3	5,6																					
RIZ_C_50	3		7,9																				
RIZ_D_25	3			9,2																			
RIZ_D_50	3				11,2																		
RIZ_C_100	3					12,3																	
RIZ_D_100	3						14,0																
RA_25	3							16,0															
RL_25	3								16,2	16,2													
RIZ_D_150	3									16,8	16,8												
RIZ_C_150	3										17,2												
RA_50	3											19,2											
RIZ_D_200	3												19,5										
TX_25	3													20,4									
RIZ_C_200	3														21,7								
RIZ_D_250	3															22,4							
RIZ_C_250	3																25,8						
RA_100	3																	26,4					
RA_150	3																		33,7				
RIZ_P_50	3																			36,7			
RA_200	3																				40,7		
TX_50	3																					40,9	



### Anexo 13

Datos descriptivos de la concentración eficiente antioxidante por el método DPPH de *Niphidium crassifolium*

Tratamiento	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Trolox	3	37,4	0,02	0,01	37,4	37,5	37,4	37,5
Rizoma proximal	3	50,4	0,05	0,03	50,3	50,5	50,3	50,4
Raíz adventicia	3	272,9	0,09	0,05	272,7	273,1	272,8	273,0
Rizoma distal	3	729,1	7,27	4,20	711,0	747,1	723,1	737,2
Rizoma completo	3	515,2	6,63	3,83	498,7	531,7	508,9	522,1
Total	15	321,0	277,9	71,7	167,1	474,9	37,4	737,2

## Anexo 14

Prueba de homocedasticidad de la concentración eficiente antioxidante por el método DPPH de *Niphidium crassifolium*

	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
Se basa en la media	5,2	4	10,0	0,016
Se basa en la mediana	2,2	4	10,0	0,141
Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,2	4	3,7	0,240
Se basa en la media recortada	5,0	4	10,0	0,018

### Anexo 15

Análisis de varianza de los valores de la concentración eficiente antioxidante por el método DPPH de *Niphidium crassifolium*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1080644,9	4	270161,2	13937,4	1,1 E-18
Dentro de grupos	193,8	10	19,4		
Total	1080838,8	14			

### Anexo 16

Análisis de comparaciones múltiples de Tukey de la concentración eficiente antioxidante por el método DPPH de *Niphidium crassifolium*

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05				
		1	2	3	4	5
Trolox	3	37,4				
Rizoma proximal	3		50,4			
Raíz adventicia	3			272,9		
Rizoma completo	3				515,2	
Rizoma distal	3					729,1
	Sig.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

## Anexo 17

Datos descriptivos de actividad antioxidante por el método ABTS de *Nipidium crassifolium*

Tratamiento	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Trolox 25	3	2,9	0,0	0,0	2,9	3,0	2,9	2,9
Trolox 50	3	27,5	0,0	0,0	27,4	27,5	27,5	27,5
Trolox 100	3	34,1	0,0	0,0	33,9	34,2	34,0	34,1
Trolox 150	3	43,2	0,0	0,0	43,2	43,3	43,2	43,3
Trolox 200	3	59,5	0,0	0,0	59,4	59,6	59,4	59,5
Trolox 250	3	85,6	0,2	0,1	85,2	86,0	85,5	85,8
Rizoma proximal 25	3	1,2	0,5	0,3	-0,1	2,5	0,8	1,8
Rizoma proximal 50	3	8,6	0,7	0,4	6,9	10,3	7,9	9,3
Rizoma proximal 100	3	13,6	0,4	0,2	12,6	14,6	13,2	13,9
Rizoma proximal 150	3	21,4	0,1	0,1	21,0	21,7	21,2	21,5
Rizoma proximal 200	3	32,5	0,4	0,2	31,6	33,4	32,1	32,9
Rizoma proximal 250	3	40,0	0,7	0,4	38,2	41,8	39,2	40,5
Raíz adventicia 25	3	5,8	0,5	0,3	4,4	7,1	5,2	6,3
Raíz adventicia 50	3	11,8	0,4	0,2	10,8	12,8	11,5	12,3
Raíz adventicia 100	3	12,2	0,4	0,2	11,2	13,1	11,7	12,4
Raíz adventicia 150	3	17,3	0,3	0,2	16,6	18,0	17,1	17,6
Raíz adventicia 200	3	21,6	0,1	0,0	21,5	21,8	21,6	21,7
Raíz adventicia 250	3	26,4	0,0	0,0	26,4	26,4	26,4	26,4
Rizoma distal 25	3	3,6	0,1	0,1	3,3	3,9	3,5	3,7
Rizoma distal 50	3	6,8	0,0	0,0	6,8	6,8	6,8	6,8
Rizoma distal 100	3	9,3	0,2	0,1	8,8	9,8	9,1	9,5
Rizoma distal 150	3	9,7	0,1	0,0	9,5	9,9	9,6	9,7
Rizoma distal 200	3	11,0	1,6	0,9	7,1	14,9	9,2	12,0
Rizoma distal 250	3	17,7	0,1	0,1	17,4	18,1	17,6	17,9
Rizoma completo 25	3	7,7	0,3	0,2	7,0	8,5	7,5	8,1
Rizoma completo 50	3	14,6	0,3	0,2	13,8	15,4	14,3	14,8
Rizoma completo 100	3	15,8	0,2	0,1	15,2	16,4	15,6	16,1
Rizoma completo 150	3	19,6	0,2	0,1	19,0	20,2	19,4	19,9
Rizoma completo 200	3	21,6	0,1	0,1	21,3	21,9	21,5	21,7
Rizoma completo 250	3	22,5	0,4	0,2	21,5	23,6	22,2	23,0

### Anexo 18

Prueba de homocedasticidad de los valores de la actividad antioxidante por el método ABTS de *Niphidium crassifolium*

	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
Se basa en la media	6,3	29,0	60,0	1,1 E-11
Se basa en la mediana	0,9	29,0	60,0	0,645
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,9	29,0	5,4	0,638
Se basa en la media recortada	5,5	29,0	60,0	1,2 E-8

### Anexo 19

Análisis de varianza de los valores de la actividad antioxidante por el método ABTS de *Niphidium crassifolium*

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Entre grupos	28040,5	29	966,9	5381,6	2,3 E-92
Dentro de grupos	10,8	60	0,2		
Total	28051,3	89			

## Anexo 20

Análisis de comparaciones múltiples de Tukey de los valores de la actividad antioxidante por el método ABTS de *Niphidium crassifolium*

Factor	N	Subconjunto para alfa = 0.05																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
Rizoma distal 25	3	1,2																							
Trolox 25	3		2,9																						
Rizoma distal 25	3		3,6																						
Raíz adventicia 25	3			5,8																					
Rizoma distal 50	3			6,8	6,8																				
Rizoma completo 25	3				7,7	7,7																			
Rizoma proximal 50	3					8,6	8,6																		
Rizoma distal 100	3						9,3																		
Rizoma distal 150	3							9,7	9,7																
Rizoma distal 200	3								11,0	11,0															
Raíz adventicia 50	3									11,8															
Raíz adventicia 100	3										12,2														
Rizoma proximal 100	3											13,6													
Rizoma completo 50	3												14,6	14,6											
Rizoma completo 100	3														15,8										
Raíz adventicia 150	3																				17,3				
Rizoma distal 250	3																					17,7			
Rizoma completo 150	3																						19,6		
Rizoma proximal 150	3																							21,4	
Rizoma completo 200	3																								21,6



## Anexo 21

Datos descriptivos de la concentración eficiente antioxidante por el método ABTS de *Niphidium crassifolium*

Tratamiento	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Trolox	3	155,0	0,6	0,3	153,5	156,5	154,3	155,3
Rizoma proximal	3	310,7	3,3	1,9	302,4	319,0	307,0	313,4
Raíz adventicia	3	536,3	10,7	6,2	509,7	562,9	525,0	546,3
Rizoma distal	3	920,3	45,9	26,5	806,3	1034,3	892,5	973,3
Rizoma completo	3	690,3	16,0	9,2	650,6	729,9	675,1	706,9

## Anexo 22

Prueba de homocedasticidad de la concentración eficiente antioxidante por el método ABTS de *Niphidium crassifolium*

	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
Se basa en la media	8,8	4,0	10,0	0,003
Se basa en la mediana	0,8	4,0	10,0	0,554
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,8	4,0	2,3	0,614
Se basa en la media recortada	7,4	4,0	10,0	0,005

### Anexo 23

Análisis de varianza de los valores de la concentración eficiente antioxidante por el método ABTS de *Niphidium crassifolium*

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Entre grupos	1099548,8	4	274887,2	552,9	1,1 E-11
Dentro de grupos	4971,7	10	497,2		
Total	1104520,4	14			

## Anexo 24

Análisis de comparaciones múltiples de Tukey de la concentración eficiente antioxidante por el método ABTS de *Niphidium crassifolium*

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05				
		1	2	3	4	5
Trolox	3	155,0				
Rizoma proximal	3		310,7			
Raíz adventicia	3			536,3		
Rizoma distal	3				690,3	
Rizoma completo	3					920,3
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

## Anexo 25

### Matriz de consistencia

#### Perfil químico y potencial antioxidante de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Cuál es la composición química y actividad antioxidante de los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.?	<p><b>Objetivo general:</b> Determinar el perfil químico y el potencial antioxidante del extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificar los metabolitos secundarios presentes en los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.</li> <li>• Cuantificar el contenido fenoles totales y flavonoides del extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.</li> <li>• Evaluar la actividad antioxidante <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.</li> <li>• Identificar los compuestos químicos de la planta <i>Niphidium crassifolium</i> L. a través del perfil químico.</li> </ul>	<p><b>Hi:</b> Los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. presenta un contenido moderado de fenoles totales y flavonoides.</p> <p><b>Hi:</b> El extracto de los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. presenta elevada actividad antioxidante.</p> <p><b>Hi:</b> <i>Niphidium crassifolium</i> L. presenta compuestos químicos a través del perfil químico.</p> <p><b>Ho:</b> El extracto de los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. no presenta actividad antioxidante.</p>	<p><b>Variables independientes</b> Perfil químico de los rizomas <i>Niphidium crassifolium</i> L. (presencia/ausencia) Extracto hidroalcohólico de <i>Niphidium crassifolium</i> L. (µg/mL). Sus indicadores es el contenido de compuestos fenólicos (mg GAE/g) y el contenido de flavonoides (mg RUE/g).</p> <p><b>Variables dependientes</b> Actividad antioxidante (AA %, CI50)</p>	<p><b>Tipo de investigación</b> Básica y aplicada.</p> <p><b>Definición de la población y muestra</b> <b>a) Población.</b> - Rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L recolectadas en la zona conocida como Oscohuilca en el distrito de Quinua de la provincia de Huamanga en la región de Ayacucho, durante el mes de mayo. <b>b) Muestra.</b> - 500 gramos de los rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. recolectadas en la zona conocida como Oscohuilca en el distrito de Quinua de la provincia de Huamanga en la región de Ayacucho, durante el mes de mayo.</p> <p><b>Determinación de actividad antioxidante por los métodos:</b> DPPH, ABTS, FRAP</p> <p><b>Métodos instrumentales para la recolección de datos</b> Para determinar el contenido de fenoles totales y evaluar la actividad antioxidante se empleará la espectrofotometría UV-VIS.</p> <p><b>Análisis estadístico</b> Los datos obtenidos serán procesados y analizados mediante el programa Microsoft Excel y expresados en promedios, representados en gráficas y se realizará el análisis de varianza para identificar diferencias estadísticamente significativas (p&lt;0,05) del factor de fotoprotección de los diferentes tratamientos, aplicándose ANOVA y comparaciones múltiples con el Test de Tukey, empleando el programa SPSS.</p>

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

### RESOLUCIÓN DECANAL N°631-2023-UNSC-FCSA-D

#### **BACHILLER: ROSY YESELA MANCILLA SANTA CRUZ**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las nueve y cinco de la mañana del día cuatro del mes de agosto del año dos mil veintitrés, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación del trabajo de tesis titulado: "**Perfil químico y potencial antioxidante de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.**", presentado por la bachiller **ROSY YESELA MANCILLA SANTA CRUZ** para optar el título profesional de Químico Farmacéutica. El jurado evaluador está conformado por:

Presidente-Miembro :Prof. José Alejandro Yarlequé Mujica  
Miembro :Prof. Stephany Massiel Barbarán Vilcatoma  
4to jurado :Prof. Juan Clímaco Paniagua Segovia  
Asesor :Prof. Marco Rolando Aronés Jara  
Secretaria Docente :Prof. Tania Mendoza Almeida

Con el quorum de reglamento se dio inicio la sustentación de tesis, el presidente de la comisión pide a la secretaria docente dar lectura a los documentos presentados por el recurrente, resolución decanal y algunas indicaciones al sustentante.

Da inicio la exposición la Bachiller: **Rosy Yesela Mancilla Santa Cruz**, y una vez concluida, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

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

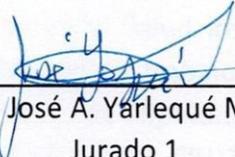
#### **RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL**

Bachiller: **ROSY YESELA MANCILLA SANTA CRUZ**

JURADOS	Texto	Exposición	Preguntas	P. Final
Prof. José A. Yarlequé Mujica	19	19	18	19
Prof. Stephany M. Barbarán Vilcatoma	18	19	19	19
Prof. Juan C. Paniagua Segovia	18	18	18	18
<b>PROMEDIO FINAL</b>				<b>19</b>

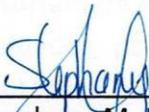
De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller **ROSY YESELA MANCILLA SANTA CRUZ**; quien obtuvo la nota final de diecinueve (19) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al

pie del presente, siendo las 10:00 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico.



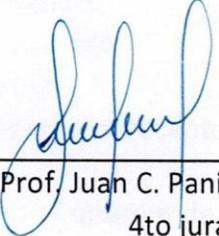
---

Prof. José A. Yarlequé Mujica  
Jurado 1



---

Prof. Stephany M. Barbarán  
Vilcatoma  
Jurado 2



---

Prof. Juan C. Paniagua Segovia  
4to jurado



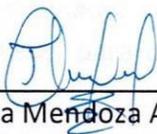
---

Prof. Marco Rolando Aronés  
Jara  
Asesor



---

Prof. José A. Yarlequé Mujica  
Presidente



---

Prof. Tania Mendoza Almeida  
Secretaria docente

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

El Instructor en Primera Instancia, designado con RD N° 331-2022-UNSCHFCSA/D, emite la presente

**CONSTANCIA**

**DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

A Rosy Yesela Mancilla Santa Cruz, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en mérito a que la tesis titulada: "Perfil químico y potencial antioxidante de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.", ha alcanzado un índice de similitud de 23% (veintitrés); cumpliendo satisfactoriamente lo establecido en el Art. 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga mediante el uso del SOFTWARE TURNITIN.

En ese sentido, se emite la presente constancia en señal de conformidad.

Ayacucho, 30 de mayo de 2023.

 Firmado digitalmente por  
Marco R. Aronés Jara  
Fecha: 2023.05.30  
05:09:16 -05'00'

-----  
Prof. Marco R. Aronés Jara  
Docente instructor - Primera instancia

Constancia N° 008-2023



**UNSCH**

FACULTAD DE  
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE  
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:**  
**TESIS DE PREGRADO**

**(C°22-2023-EPFB-UNSCH)**

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

**Perfil químico y potencial antioxidante de los rizomas de  
*Niphidium crassifolium* L.**

Presentado por: Bach. MANCILLA SANTA CRUZ, ROSY YESELA

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **23% de índice de similitud.**

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

Ayacucho, 01 de junio del 2023



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

*Mg. Maricela López Sierralta*  
DIRECTORA  
Docente. Instructor  
Segunda instancia

cc.  
Archivo.

# Perfil químico y potencial antioxidante de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

*por* Rosy Yesela Mancilla Santa Cruz

---

**Fecha de entrega:** 01-jun-2023 11:16p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2107198784

**Nombre del archivo:** TESIS\_ROSY\_YESELA\_MANCILLA\_220223.pdf (1.12M)

**Total de palabras:** 14893

**Total de caracteres:** 75042

# Perfil químico y potencial antioxidante de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

## INFORME DE ORIGINALIDAD

23%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

13%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	10%
2	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	2%
3	www.scielo.org.bo Fuente de Internet	2%
4	revistas.sqperu.org.pe Fuente de Internet	1%
5	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	bdigital.unal.edu.co Fuente de Internet	1%
7	scielo.isciii.es Fuente de Internet	1%
8	core.ac.uk Fuente de Internet	1%

9	<a href="http://www.casapia.com">www.casapia.com</a> Fuente de Internet	1 %
10	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Fuente de Internet	<1 %
11	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	<1 %
12	<a href="http://vocero.uach.mx">vocero.uach.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
13	<a href="http://dspace.esPOCH.edu.ec">dspace.esPOCH.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
14	<a href="http://repositorio.unp.edu.pe">repositorio.unp.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
15	<a href="http://docslide.net">docslide.net</a> Fuente de Internet	<1 %
16	<a href="http://www.scielo.org.mx">www.scielo.org.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
17	Jorge Luis Fuentes Lorenzo. "Las plantas como fuente de compuestos fotoprotectores frente al daño en el ADN producido por la radiación ultravioleta", Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 2019 Publicación	<1 %

---

Excluir citas Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía Activo