

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS:

Contenido de polifenoles, potencial antioxidante y fotoprotección solar *in vitro* de hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

Para optar el título profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. Candhy Hotharu MIRANDA MACHACA

ASESOR:

Dr. Marco Rolando ARONES JARA

AYACUCHO - PERÚ

2024

A mis padres y hermanas que
estuvieron apoyándome
incondicionalmente en mi
camino universitario.

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por acogerme en sus aulas.

A la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y sus destacados docentes, por brindarme sus amplios y bastos conocimientos, que influyeron en mi formación personal y profesional.

Al Dr. Marco Rolando Aronés Jara, por su valiosa asesoría durante el desarrollo de esta investigación, quien con su amplia experiencia y apoyo constante fue fundamental en la realización de este trabajo.

Del mismo modo, un agradecimiento especial a todos quienes estuvieron presentes en mi camino universitario.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.1.1. Antecedentes internacionales	3
2.1.2. Antecedentes nacionales	5
2.1.3. Antecedentes locales	6
2.2. Marco conceptual	6
2.2.1. Rizoma	6
2.2.2. Raíces	6
2.2.3. Fronda u hoja	6
2.2.4. Antioxidantes	7
2.2.5. Efecto fotoprotector	7
2.3. Bases teóricas	7
2.3.1. <i>Niphidium crassifolium</i> L.	7
2.3.2. Metabolitos secundarios con actividad antioxidante	9
2.3.3. Radicales libres y estrés oxidativo	10
2.3.4. Metabolitos secundarios con efecto de fotoprotección solar	10
2.3.5. Actividad antioxidante y capacidad fotoprotectora de compuestos fenólicos	11
2.3.6. Método de Folin-Ciocalteu para cuantificación de fenoles totales	11
2.3.7. Método de tricloruro de aluminio para cuantificación de flavonoides	12
2.3.8. Método de radical libre DPPH	12
2.3.9. Método ABTS ^{•+}	13

2.4. Hipótesis	14
2.5. Selección de las variables para el estudio	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Ubicación	15
3.2. Población y muestra	15
3.2.1. Población	15
3.2.2. Muestra	15
3.3. Procedimiento para la recolección de datos	15
3.3.1. Preparación del extracto de los rizomas de <i>N. crassifolium</i>	15
3.3.2. Preparación del extracto de las hojas 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	16
3.3. Alcance de investigación	17
3.4. Diseño de investigación	18
3.5. Análisis estadístico	18
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	37
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
IX. ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1	
Concentración eficiente antioxidante de los rizomas y hojas	26
de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Estructura de la hoja y rizoma de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	7
Figura 2	Reacción del ensayo de Folin-Ciocalteu.	12
Figura 3	Reacción del ensayo del tricloruro de aluminio.	12
Figura 4	Reacción del ensayo del radical DPPH•.	13
Figura 5	Reacción del ensayo del radical ABTS• ⁺ .	13
Figura 6	Contenido de compuestos fenólicos en rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	23
Figura 7	Actividad antioxidante mediante el método DPPH en rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	24
Figura 8	Actividad antioxidante mediante el método ABTS• ⁺ en rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	25
Figura 9	Barrido espectral para la evaluación de la actividad fotoprotectora <i>in vitro</i> de rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	27
Figura 10	Factor de fotoprotección solar <i>in vitro</i> de rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	28

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1	Identificación taxonómica de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	47
Anexo 2	Curva de calibración del ácido gálico para la determinación de fenoles totales de los rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	48
Anexo 3	Curva de calibración de rutina para la determinación de flavonoides de los rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	49
Anexo 4	Análisis de datos del contenido de compuestos fenólicos en rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	50
Anexo 5	Análisis de datos de la actividad antioxidante mediante el método DPPH• de los rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	51
Anexo 6	Análisis de datos de la actividad antioxidante mediante el método ABTS•+ de los rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	52
Anexo 7	Análisis de datos de la concentración eficiente antioxidante de los rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	53
Anexo 8	Análisis de datos del factor de fotoprotección solar de rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	54
Anexo 9	Matriz de consistencia	55

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo determinar el contenido de polifenoles, el potencial antioxidante y la capacidad de fotoprotección solar *in vitro* de las hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L. recolectados el anexo de Oscohuilca, distrito de Quinua, departamento de Ayacucho. El extracto hidroalcohólico seco de hojas y rizomas se obtuvo mediante maceración y secado por atomización. El contenido de fenoles totales (TPC) se cuantificó mediante el método de Folin-Ciocalteu (mg GAE/g) y de flavonoides totales (TFC) por el método de tricloruro de aluminio (mg RUE/g). El potencial antioxidante *in vitro* fue evaluado mediante los métodos DPPH• y ABTS••, cuyos resultados se expresaron como actividad antioxidante y concentración eficiente antioxidante. El Factor de Protección Solar (FPS) se determinó utilizando el método *in vitro* de Mansur. Las hojas de *Niphidium crassifolium* L. presentaron un contenido significativamente mayor de TPC ($182,9 \pm 0,67$ mg GAE/g) y TFC ($26,82 \pm 0,42$ mg RUE/g) en comparación con los rizomas, que registraron valores de TPC ($145,7 \pm 1,56$ mg GAE/g) y TFC ($7,58 \pm 0,42$ mg RUE/g). La concentración eficiente antioxidante de las hojas fue superior al de rizomas, aunque significativamente menor al Trolox ($p < 0,05$). El FPS de los rizomas a una concentración de 200 µg/mL fue de 5,82, mientras que el de las hojas alcanzó un valor de 9,55 a la misma concentración. En conclusión, las hojas de *Niphidium crassifolium* contienen mayor cantidad de compuestos fenólicos, lo que se traduce en una mayor actividad antioxidante y capacidad fotoprotectora en comparación con los rizomas.

Palabras clave: *Niphidium crassifolium* L., fenoles, flavonoides, actividad antioxidante, fotoprotección.

I. INTRODUCCIÓN

Niphidium crassifolium L. es una especie que pertenece a la familia Polypodiaceae,¹ y se encuentra en una amplia área geográfica que va desde el nivel del mar hasta los 3800 msnm.³ Se encuentra en México, Centroamérica, Colombia, Venezuela, Guayanas, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, Paraguay, Antillas y Trinidad.³ Crece en áreas selváticas, muros viejos, bordes de caminos, acantilados y cuevas rocosas.³ *N. crassifolium* también se encuentra distribuido en la región de Ayacucho.² Para el presente estudio ha sido recolectado en el anexo de Ocohuilca en el distrito de Quinua de la provincia de Huamanga.

En la medicina tradicional es ampliamente usado.⁴ Se usa como antipirético, contra la tos, dolores reumáticos y para la elaboración de bebidas.⁴ Por lo tanto, su versatilidad y eficacia lo convierte en un remedio natural de gran importancia en el tratamiento de diversas afecciones.

La composición química de *N. crassifolium* incluye una variedad de fitoconstituyentes con propiedades medicinales.⁵ Contienen saponinas triterpénicas, flavonoides, ácidos fenólicos, derivados floroglucínicos, esteroides, lípidos, mucílagos, taninos, resina y aceite esencial.⁶ Estos compuestos químicos pueden tener diferentes efectos en el organismo, como el de reducir la inflamación, proteger contra el estrés oxidativo y promover la salud en general.

N. crassifolium es una planta que se utiliza para tratar diversas afecciones.⁷ Algunas de las propiedades terapéuticas de esta planta incluyen: actividad antiinflamatoria y cicatrizante,¹ inmunomoduladora,⁸ anticancerígena, protectora frente a enfermedades neurodegenerativas⁷ y antioxidante.⁹ Esta última propiedad terapéutica ha sido explorada en menor medida, evidenciándose en un único estudio que ha abordado su actividad antioxidante, el cual ha demostrado su potencial antioxidante,⁹ que puede ayudar a proteger las células del cuerpo contra el daño causado por los radicales libres.⁷ Esto plantea la necesidad de investigar su contenido de polifenoles quienes son encargados de conferir propiedades

antioxidantes^{7,10} y de protección solar.⁷ *N. crassifolium*, se emplea también, como uno de los principales ingredientes en la preparación del emoliente por su actividad diurética.⁴

Son estas propiedades que convierten a *N. crassifolium* en una planta potencial debido a sus múltiples beneficios terapéuticos y alimentarios, lo que resalta la necesidad de investigar más a fondo sus cualidades para maximizar sus aportes a la salud.

Esto convierte a los extractos de helechos en una fuente novedosa para el aislamiento de nuevos fitoquímicos con potencial terapéutico aún desconocido.

Además, existe evidencia sobre estudios de la actividad antioxidante de otras especies de la familia *Polypodiaceae*,⁷ pero hay poca información sobre el *N. crassifolium*, por lo que, genera un vacío de conocimiento en relación a la magnitud de la actividad antioxidante que posee. Asimismo, son limitados los estudios que han abordado específicamente la actividad antioxidante y de protección solar de *N. crassifolium*.

Por lo tanto, este estudio pretende llenar ese vacío de conocimiento al investigar su contenido de polifenoles, así como de identificar su actividad antioxidante y de protección solar. Además, existe una falta de investigaciones en la etnobotánica y la bioprospección del helecho *N. crassifolium*,⁷ lo que limita el conocimiento sobre sus posibles usos y beneficios.

En ese sentido, el problema de investigación fue ¿Cuál es el contenido de polifenoles de las hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L. y qué nivel de actividad antioxidante y de fotoprotección solar *in vitro* presentan?

Por las consideraciones expuestas, el presente estudio tiene el objetivo de determinar el contenido de polifenoles, el potencial antioxidante y de fotoprotección solar *in vitro* de las hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

Para ello, se planteó los siguientes objetivos específicos:

- Cuantificar el contenido de fenoles totales y flavonoides en las hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de las hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.
- Evaluar el efecto de fotoprotección solar *in vitro* de las hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

Navarrete et al.,⁴ en el 2006 publicaron un estudio sobre “Helechos”. La investigación se basó en los usos de más de 200 especies de pteridofitas en Ecuador, Perú y Bolivia. Una de las especies fue *N. crassifolium* que es usado por los Tsáchila como antipirético y por los Quechua de Chinchero para tratar la tos. Además, se le atribuye propiedades diuréticas y también es empleado como ingrediente en el emoliente. Clasificaron los usos de las pteridofitas en nueve categorías (alimenticias, forrajeras, malezas, cosméticos, materiales, medicinales, tóxicas, usos ambientales y sociales). El número más alto de especies se reporta en la categoría medicinal. Concluyeron que las pteridofitas tienen más de un uso, siendo de mayor prevalencia las medicinales y ambientales.

Gudiel L.,¹¹ en el 2009 en su investigación “Evaluación fitoquímica y actividad antioxidante de *Polypodium triseriale* SW” procedente de dos regiones: Alta Verapaz y Escuintla de Guatemala, evidenció que los extractos secos de la fronda presentan mayor porcentaje de flavonoides (Alta Verapaz con 6,99% y Escuintla 3,55%) a diferencia de los extractos del rizoma (Alta Verapaz con 0,84% y Escuintla 1,55%). En cuanto a la actividad antioxidante, los rizomas (Alta Verapaz con 0,056 y Escuintla 0,116) de ambos lugares presentaron mayor capacidad antioxidante en comparación a las frondas (Alta Verapaz con 0,158% y Escuintla 0,195) en base a IC50 concentración inhibitoria media. Concluyó que el mejor disolvente para la fronda y el rizoma es el etanol al 50%. Asimismo, los extractos secos de las frondas presentan un mayor porcentaje de flavonoides para ambas localidades y los extractos secos del rizoma presentan mayor capacidad antioxidantes para ambas localidades.

Carraz et al.,¹² en el 2015 publicaron el artículo “Actividad antiproliferativa y modificación fenotípica inducida por plantas medicinales peruanas seleccionadas,

sobre células Hep3B de carcinoma hepatocelular humano”. Recolectaron 51 especies y prepararon 61 extractos etanólicos para su análisis. Además, se menciona el uso tradicional de la planta *N. crassifolium* como depurativo, desintoxicante, para problemas de la piel, afecciones como inflamación de riñones, próstata, vejiga, entre otros. Del mismo modo, determinaron la actividad antiproliferativa en células Hep3B de carcinoma hepatocelular humano donde catorce extractos de 13 especies entre ellas *N. crassifolium* L. mostró una actividad antiproliferativa significativa contra células Hep3B ($IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$).

Sureshkumar et al.,¹³ en el 2018 realizaron una revisión sobre “Las pteridofitas de importancia etnomedicinal de la India”, en el cual describieron 283 especies de pteridofitos que se utilizan para tratar 129 dolencias. Asimismo, los registros etnobotánicos de los estados de Madhya Pradesh, Tamil Nadu, Assam, Arunachal Pradesh y Uttarakhand revelaron el 59% de los usos generales de pteridofitos de la India. Encontraron, además, que la familia *Polypodiaceae* es la que tiene mayor número de especies de importancia medicinal, utilizadas para tratar diversas afecciones como dolor corporal, dolor de rodillas y articulaciones, reumatismo, esguinces, hemorroides, sarna, úlceras, eccemas, gonorrea, cortes, heridas, fiebre, disentería, diuréticos, problemas urinarios, resfriados, tos, enfermedades de la piel, dolor de cabeza y quemaduras. En el caso de la especie *N. crassifolium*, las etnias indias le atribuyen propiedades para incrementar la fuerza corporal y facilitar el parto. Concluyeron que las pteridofitas tienen una importancia significativa en las prácticas médicas tradicionales; sin embargo, hay una escasez de estudios científicos sobre su uso farmacológico. Por lo tanto, la investigación en la fitoquímica y farmacología de estas plantas medicinales podría revelar principios activos para el desarrollo de terapias innovadoras.

Carretero y Ortega,⁶ en el 2018 publicaron una revisión sobre el efecto fotoprotector de plantas medicinales frente al daño solar, destacando la familia *Polypodiaceae* y, en particular, el extracto acuoso de las hojas de *Polypodium leucotomos*. En estudios con animales, este extracto mostró propiedades antioxidantes y fotoprotectoras, además de reducir el cáncer de piel y el fotoenvejecimiento inducido por radiación UVB. También disminuyó el número de tumores cutáneos en ratones y activó la expresión de p53, inhibió la COX-2, redujo la inflamación aguda, el daño oxidativo al ADN y las mutaciones inducidas por UV. Estos efectos se atribuyen principalmente a sus compuestos fenólicos, como los ácidos cafeico y ferúlico, reconocidos por su actividad antioxidante.

Farrás A.,⁷ en el 2022 en su estudio “Fito caracterización y actividad biológica de extractos de helechos de las familias *Polypodiaceae* y *Aspleniaceae* procedentes de las montañas de Prades (Tarragona)”, encontró que el extracto metanólico de *Polypodium vulgare* mostró una fuerte actividad antioxidante según los ensayos de DPPH, ORAC y X/XO que se pueden correlacionar con su contenido total de compuesto fenólicos. También se observaron propiedades citoprotectores y citoreparadoras *in vitro*. El compuesto fenólico principal encontrado mediante dos técnicas diferentes, HPLC-DAD y HPLC-MS/MS, fue el 3-O-cafeiolquínico también conocido como ácido clorogénico. Además, se observó que a una concentración de 1mg/mL, el extracto de *P. vulgare* posee propiedades antiproliferativas en las líneas celulares HepG2 y HeLa. Llegó a la conclusión de que la extracción con metanol tuvo un rendimiento superior al de la extracción con hexano. Además, los extractos obtenidos con metanol tienen una mayor capacidad antioxidante y anti-tirosinasa.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Cabanillas y Chávez,⁵ en el 2018 en su investigación “Determinación preliminar de fitoconstituyentes en rizomas de *Niphidium albopunctatissimum* L. y su actividad frente al radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo,” lograron determinar la presencia de fitoconstituyentes en los rizomas de *Niphidium albopunctatissimum* L. y su efectividad como antioxidante contra el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. Los resultados demostraron que los rizomas presentaron una captura del radical libre del 55,5% y una IC50 de 1,705 µg/mL, siendo los compuestos fenólicos responsables de esta capacidad antioxidante.

Vargas C.,¹ en el 2022, en su investigación “Identificación de metabolitos secundarios y evaluación del efecto antiinflamatorio y cicatrizante del extracto etanólico de rizomas de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger” demostró la presencia de metabolitos como taninos, quinonas y flavonoides con una posible estructura química de 4,7-dihydroxiflavina. También determinó que la concentración del extracto al 20% tenía un mayor efecto cicatrizante. Concluyó que el extracto etanólico no tiene efecto antiinflamatorio y que su efecto cicatrizante es mayor a concentraciones altas.

Portal M.,⁸ en el 2024, en su investigación: “Actividad inmunomoduladora *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Niphidium crassifolium* sobre células del sistema inmune”, identificó de manera cualitativa los compuestos bioactivos presentes en el rizoma y la fronda foliar, detectando la

presencia de saponinas, lactonas sesquiterpénicas y azúcares reductores. Además, evidenció la presencia de alcaloides exclusivamente en la fronda foliar. Por otro lado, encontró una fuerte actividad inhibitoria de la proliferación de linfocitos *in vitro* para los extractos de rizomas a concentraciones de 1000 y 500 µg/mL, a diferencia del extracto de la fronda foliar que presentó una actividad inhibitoria baja. Además, logró determinar la capacidad inmunomoduladora sobre la actividad fagocítica de neutrófilos y el número de levaduras *C. albicans* fagocitadas. Este estudio demostró que el extracto hidroalcohólico de *N. crassifolium* tiene actividad inmunomoduladora.

2.1.3. Antecedentes locales

Mancilla R.,⁹ en su estudio de 2023 titulado “Perfil químico y potencial antioxidante de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L.”. Identificó la presencia de compuestos fenólicos, catequinas, triterpenos, saponinas y flavonoides. Determinó que el rizoma proximal presenta un contenido significativamente mayor de fenoles totales (264,6 mg GAE/g de extracto seco) en comparación con el rizoma complemento (94,8 mg GAE/g de extracto seco). Además, la raíz adventicia del rizoma registró un contenido de flavonoides de $54,1 \pm 0,6$ mg RUE/g de extracto seco. Concluyó que el rizoma proximal destaca por su elevado contenido de fenoles totales, mientras que la raíz adventicia posee mayores niveles de flavonoides.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Rizoma

Es un tallo modificado que, por lo general, crece de forma subterránea y horizontal. Está dotado de hojas modificadas conocidas como catáfilas, aunque también puede estar recubierto por escamas o tricomas.¹⁴

2.2.2. Raíces

Las raíces en los helechos, de tipo adventicio, anclan la planta al suelo y se encargan de absorber agua y nutrientes inorgánicos.¹⁴

2.2.3. Fronda u hoja

La fronda, o hoja, se compone de dos partes principales: el estípite o pecíolo y la lámina. El eje central de la lámina recibe el nombre de raquis. La lámina puede ser entera, formando hojas simples, o estar subdividida, dando lugar a hojas compuestas.¹⁴

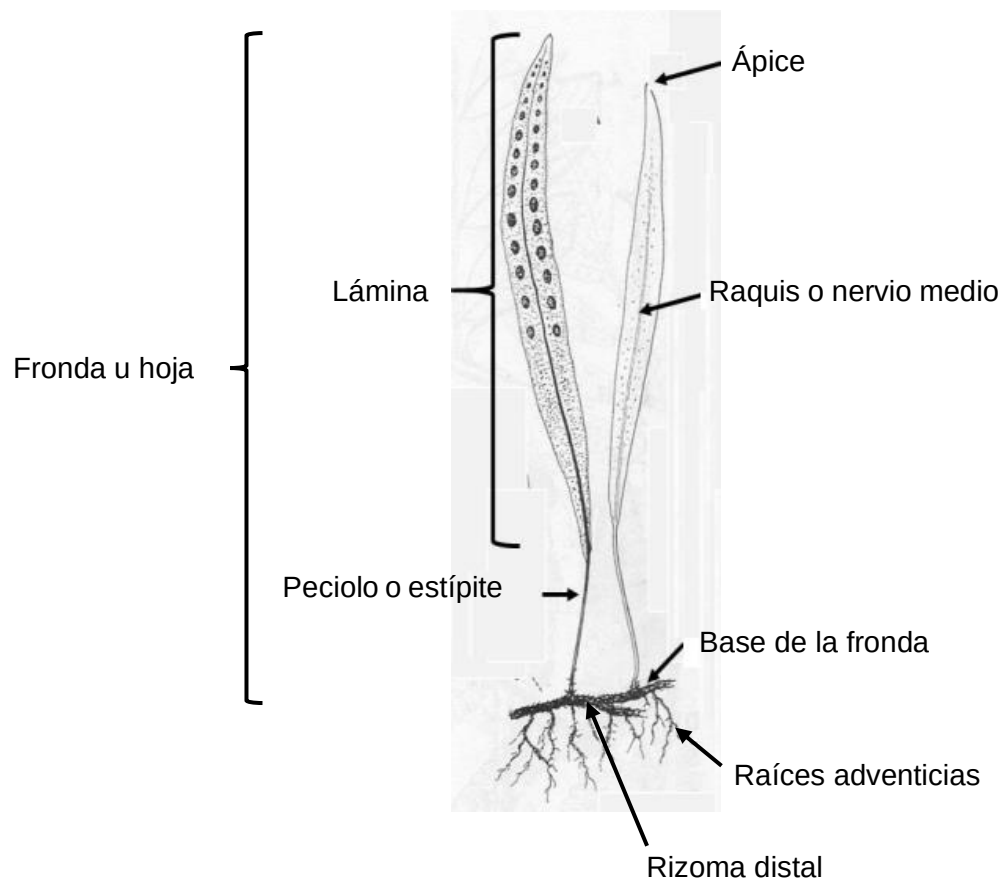


Figura 1: Estructura de la hoja y rizoma de *Niphidium crassifolium* L.

2.2.4. Antioxidantes

Son compuestos que inhiben o retardan la oxidación de otras moléculas inhabilitando el comienzo de las reacciones en cadenas de los radicales libres.¹⁵

2.2.5. Efecto fotoprotector

Se define como los mecanismos orientados a prevenir los efectos nocivos de la radiación solar sobre la piel.¹⁶

2.3. Bases teóricas

2.3.1. *Niphidium crassifolium* L.

2.3.1.1. Descripción botánica

Niphidium crassifolium L. es una epífita terrestre o rupícola,³ presenta un rizoma corto reptante de 7 a 12 mm de diámetro con escamas ovado lanceoladas, ápice acuminado corto o muy largo, escasamente bicoloras, clatradas, grisáceas en el centro y blanquecinas en el margen, a menudo son erosas en la vejez.¹⁷ Presenta una estípite adaxialmente sulcado de la cual emerge la lámina foliar comúnmente elíptica a linear-elíptica, raramente oblanceolada de 45 a 80 cm de largo y de 11

a 18 cm de ancho,³ con base cuneada a cortamente atenuada, ápice agudo a obtuso, adaxialmente verde oscuro cuando está viva, venas principales libres de 5 a 12 mm y venas secundarias reticuladas.¹⁷

2.3.1.2. Distribución geográfica

Está ampliamente distribuido desde el nivel del mar hasta 3800 msnm, se encuentra en México, Centroamérica, Colombia, Venezuela, Guayanas, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, Paraguay, Antillas y Trinidad. Creciendo en áreas selváticas, muros viejos, bordes de caminos, acantilados y cuevas rocosas.³

En el Perú se hallan variedades de *N. crassifolium* que se desarrollan a altitudes de 1900 a 2400 msnm en departamentos como Cajamarca, Áncash, Pasco, Amazonas, Ayacucho y La Libertad. Además, estas plantas también se pueden encontrar en las cuencas de Crisnejas, Pachachaca y Palca.¹

En el departamento de Ayacucho, se encuentra en la provincia de La Mar en los distritos de Anco y Ayna.²

2.3.1.3. Usos tradicionales

Niphidium crassifolium L. tiene amplios usos tradicionales. Se le atribuyen propiedades antipiréticas y contra la tos.⁴ Tradicionalmente, para tratar la fiebre, se utiliza una decocción de sus hojas, la cual se consume en una taza dos o tres veces al día.¹⁸

El rizoma y las hojas se emplean para tratar diversas afecciones como tumores, artritis, psoriasis, vitíligo, inflamaciones, cicatrices, dermatosis relacionadas con tumores cancerígenos, irregularidades menstruales, vaginismo y vaginitis. También se utilizan como depurativos y desintoxicantes, con beneficios para la piel, el sistema inmunológico, y propiedades diuréticas que ayudan a eliminar ácido úrico y colesterol. Su preparación consiste en hervir raíces picadas en 1,5 litros de agua durante 15 minutos, consumiéndose como agua a lo largo del día.¹²

2.3.1.4. Composición química

Niphidium crassifolium contiene una amplia gama de compuestos químicos, como alcaloides,⁸ saponinas triterpénicas (incluyendo calagualina y polipodinas), flavonoides, ácidos fenólicos (cafeico, ferúlico, p-cumárico y clorogénico), derivados floroglucínicos, esteroides (ecdisterona y ecdisonas), ácidos grasos poliinsaturados, mucílagos, taninos, resinas y aceite esencial de aroma suave.⁶ Estos compuestos son responsables de sus propiedades medicinales, destacándose su actividad antioxidante, antiinflamatoria y analgésica.⁷

2.3.1.5. Usos terapéuticos

N. crassifolium es una planta que se utiliza para tratar diversas afecciones,⁷ algunas de las propiedades terapéuticas de esta planta incluyen: actividad antiinflamatoria y cicatrizante,¹ inmunomoduladora,⁸ antioxidante,⁹ anticancerígena y protectora frente a enfermedades neurodegenerativas.⁷

Otras de sus aplicaciones terapéuticas es su capacidad analgésica para tratar el dolor hepático y renal.¹⁹

2.3.2. Metabolitos secundarios con actividad antioxidante

Las plantas producen de manera natural una amplia variedad de compuestos orgánicos, incluyendo metabolitos primarios y secundarios.¹⁰ Los metabolitos secundarios participan en sistemas de defensa y en la respuesta a factores de estrés biótico y abiótico.¹⁰ Entre ellos, los polifenoles, alcaloides y aceites esenciales destacan por sus propiedades antioxidantes.¹⁵ Esta actividad antioxidante se atribuye principalmente a los polifenoles, debido a su capacidad para neutralizar o inhibir la formación de radicales libres.²⁰

Siendo así los polifenoles los principales fitoquímicos con actividad antioxidante, dentro de ellos tenemos:

Fenoles: Estos compuestos derivan del fenol, también son conocidos como compuestos fenólicos o fenilpropanoides.²⁰ Químicamente, los compuestos fenólicos son un grupo muy diverso que comprenden moléculas como los fenoles simples y los ácidos fenólicos.^{7,20}

La propiedad antioxidante se basa en tres mecanismos principales: transferencia de un átomo de hidrógeno, transferencia de un electrón y quelación de metales de transición. En el primer caso, el radical libre se reduce al captar un átomo de hidrógeno con su electrón; en el segundo, el antioxidante dona un electrón al radical libre, generando un radical catiónico; y en el tercero, los metales de transición se inactivan mediante la quelación de sus iones, alterando su potencial redox.⁷

Flavonoides: Son derivados de la condensación de un fenol simple con un derivado de fenilpropano,⁷ actúan como tampones al neutralizar radicales libres mediante la formación de un radical flavínico, menos reactivo debido a la mayor deslocalización de los electrones desapareados. Además, compuestos como la quercetina y otras flavanonas tienen la capacidad de quelar iones metálicos de transición, como hierro y cobre, previniendo la generación de especies reactivas de oxígeno.²⁰

2.3.3. Radicales libres y estrés oxidativo

Conocidas también como especies reactivas del oxígeno (ROS) y especies reactivas del nitrógeno (RNS). Son especies químicas que existen de manera independiente y que presentan uno o más electrones desapareados en su estructura, como consecuencia son altamente reactivos. Estos a concentraciones bajas son esenciales para el buen funcionamiento celular ya que pueden actuar como segundos mensajeros estimulando la proliferación celular y actuando como mediadores para la activación de las células.¹⁵

Sin embargo, un desequilibrio entre la producción de radicales libres y su eliminación por las defensas antioxidantes celulares generan el estrés oxidativo. Las consecuencias del estrés oxidativo descontrolado pueden afectar el metabolismo básico y causar daño oxidativo a macromoléculas biológicas como el ADN, lípidos, carbohidratos y proteínas.²¹

Los radicales libres están involucrados en el desarrollo de diversas enfermedades, como cáncer, diabetes, afecciones cardiovasculares, reumatológicas, gastroentéricas, broncopulmonares y neurodegenerativas, además de desempeñar un papel en el proceso de envejecimiento.¹⁵

2.3.4. Metabolitos secundarios con efecto de fotoprotección solar

Los metabolitos secundarios de diversas especies vegetales han demostrado propiedades fotoprotectoras frente a la radiación UV, principalmente gracias a su capacidad antioxidante y de neutralización de radicales libres de oxígeno, responsables del daño cutáneo asociado al estrés oxidativo.^{6,22} Entre estos compuestos se incluyen fenoles, flavonoides, isoflavonoides, antocianos, taninos, terpenos y ácidos grasos insaturados, cuya eficacia fotoprotectora ha sido probada en estudios *in vitro*, en modelos animales y, en algunos casos, en humanos.⁶ En particular, las flavonas, taninos y sustancias lipídicas han mostrado ser efectivas contra la radiación visible y UVB.⁶

Carotenoides: Son pigmentos liposolubles presentes en frutas y verduras, son, junto con los polifenoles, algunos de los antioxidantes naturales más reconocidos. Estudios han asociado el efecto fotoprotector del β -caroteno y combinaciones de carotenoides como β -caroteno, luteína y licopeno. Entre ellos, la vitamina A destaca por su capacidad de absorción en el rango UV de 300-350 nm, lo que sugiere su potencial utilidad como filtro solar.²²

Micosporinas: Son metabolitos secundarios fúngicos que absorben UVR entre 310-320 nm, formados por un anillo ciclohexanona conjugado con un sustituyente de nitrógeno de un aminoácido o aminoalcohol.²²

Flavonoides: Son conocidos como pigmentos no fotosintéticos, actúan como filtros solares al absorber la radiación ultravioleta (UVR) y disipar el exceso de energía. Además, poseen propiedades antioxidantes que protegen a las plantas del estrés oxidativo causado por la UVR, un mecanismo que podría aplicarse a la fotoprotección en humanos. Su amplia distribución en las plantas facilita su disponibilidad como compuestos bioactivos fotoprotectores, mientras que su biosíntesis inducida por la UVR sugiere que su capacidad para absorber estas radiaciones nocivas es una característica fotoprotectora clave²²

2.3.5. Actividad antioxidante y capacidad fotoprotectora de compuestos fenólicos

Los metabolitos secundarios vegetales tienen la capacidad de estabilizar radicales libres; entre los cuales, destacan los compuestos fenólicos, ya que presentan grupos cromóforos en su estructura; lo que permite la absorción de radiación en longitudes de onda compatible con los rayos UV.²³ La capacidad fotoprotectora se debe principalmente a su contenido de ácidos fenólicos, como derivados del ácido benzoico y cinámico, que aportan una potente acción antioxidante.⁷

La estructura química de los compuestos fenólicos permite la donación de electrones o átomos de hidrógeno a otras moléculas, debido a la presencia de dobles enlaces, lo que promueve una deslocalización más amplia de electrón desapareado. El efecto de resonancia que se produce cuando se excita la molécula se considera una de las razones que justifican la capacidad antioxidante de estos compuestos.²³

Los compuestos fenólicos tienen un poder reductor frente al estrés oxidativo, lo que los convierte en agentes antioxidantes polivalentes; con multitud de aplicaciones, entre las cuales destacan su capacidad fotoprotectora.⁷ Es así que la capacidad fotoprotectora de los compuestos fenólicos, está fuertemente relacionada con sus propiedades antioxidantes.⁶

2.3.6. Método de Folin-Ciocalteu para cuantificación de fenoles totales

El método Folin-Ciocalteu evalúa el contenido de fenoles totales midiendo la intensidad de la coloración azul producida por la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo en medio alcalino. Este reactivo, una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico, genera ácido

fosfomolibdotúngstico amarillo que, al ser reducido por grupos fenólicos, forma un complejo azul intenso. La absorbancia de este complejo se mide espectrofotométricamente a 765 nm.²⁴

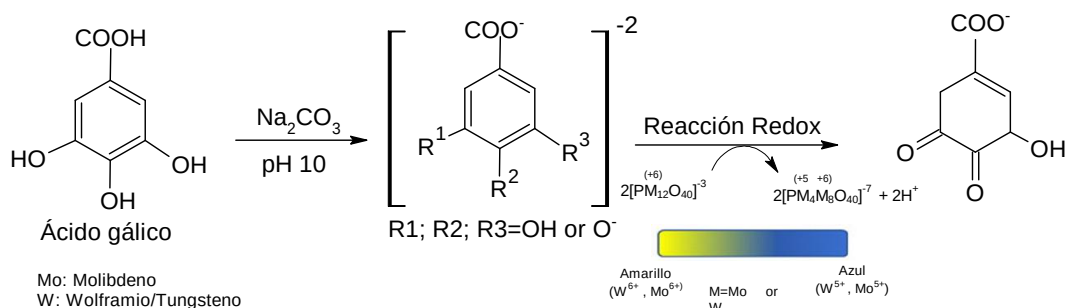


Figura 2. Reacción del ensayo de Folin-Ciocalteu.²⁵

2.3.7. Método de tricloruro de aluminio para cuantificación de flavonoides

El método se basa en el uso del tricloruro de aluminio para la formación de complejos estables en estado ácido con los grupos cetona y los grupos hidroxilo de los flavonoides, es así como este ensayo se basa en la capacidad quelante de los flavonoides. Los complejos formados presentan absorbancia a 415 nm y da una coloración amarilla.²⁶

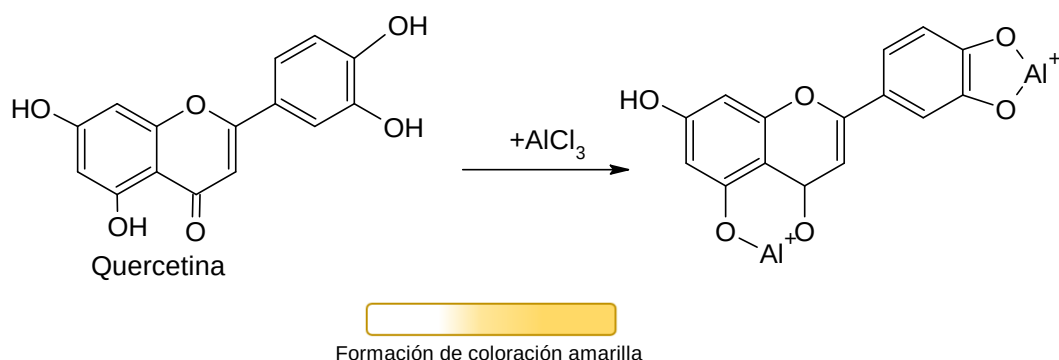


Figura 3. Reacción del ensayo del tricloruro de aluminio.²⁶

2.3.8. Método de radical libre DPPH

El radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es estable gracias a la deslocalización de su electrón desapareado a lo largo de toda la molécula. La prueba DPPH evalúa la actividad antioxidante mediante la donación de electrones por parte de los antioxidantes, lo que neutraliza el radical DPPH. Este proceso genera un cambio de color cuya intensidad, medida a 515 nm, indica la capacidad antioxidante.²⁴

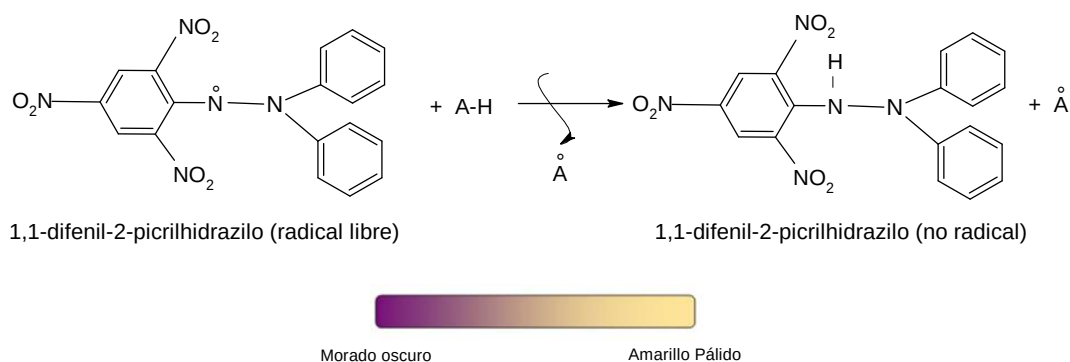


Figura 4. Reacción del ensayo del radical DPPH $\cdot$.²⁴

2.3.9. Método ABTS $\cdot^+$

Mide la capacidad de los antioxidantes para neutralizar el 2,2-ácidoazinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS $\cdot^+$) que es un catión radical estable, cromóforo azul verdoso de absorción a 734 nm, su intensidad disminuye en presencia de antioxidantes.²⁴ El método se basa en la generación directa del cromóforo ABTS $\cdot^+$ azul verdoso debido a la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$); la adición de los antioxidantes al radical preformado lo reduce a ABTS.²⁷

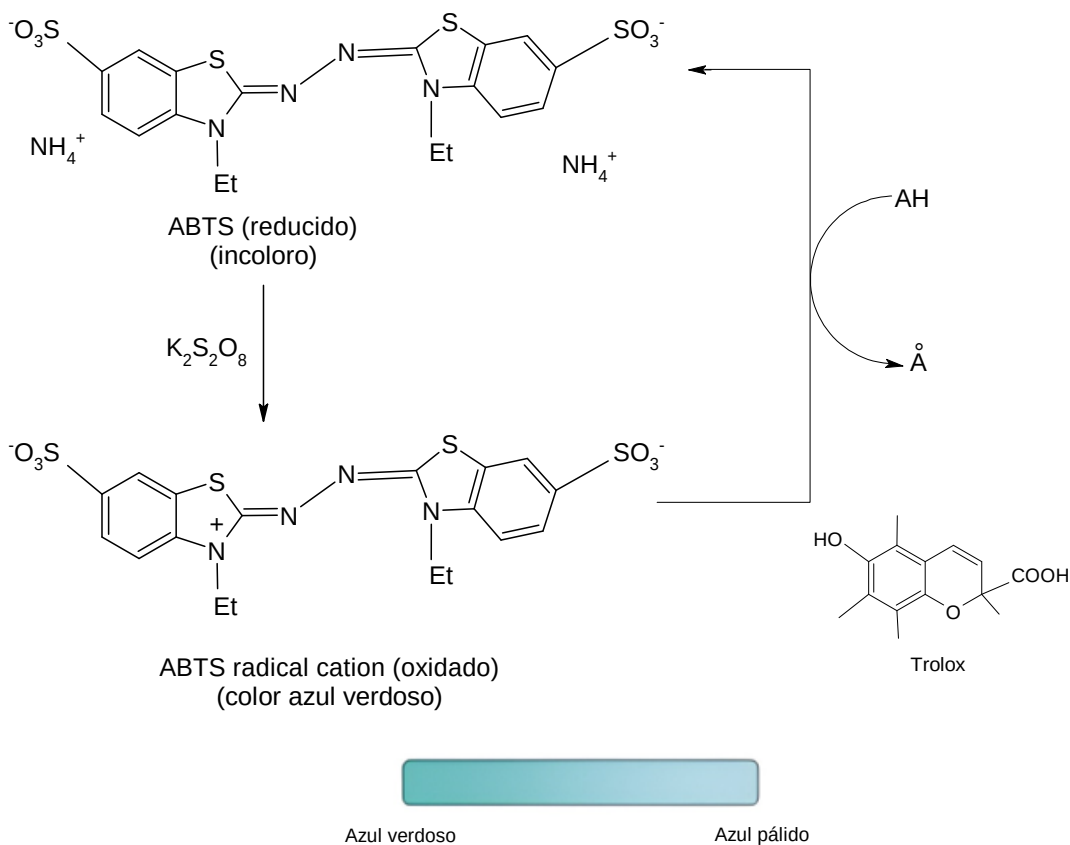


Figura 5. Reacción del ensayo del radical ABTS $\cdot^+$.²⁴

2.4. Hipótesis

Hipótesis nula

Las soluciones de los extractos de rizomas y de hojas de *Niphidium crassifolium* L. no disminuyen significativamente la concentración de una solución radical DPPH y ABTS^{•+}.

Hipótesis alternativa

Las soluciones de los extractos de rizomas y de hojas de *Niphidium crassifolium* L. disminuyen significativamente la concentración de una solución radical DPPH y ABTS^{•+}.

2.5. Selección de las variables para el estudio

Variable independiente

Concentración del extracto de hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

Variable dependiente

Actividad antioxidante y efecto de fotoprotección solar *in vitro*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

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

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L. recolectadas en el bosque de Oscohuilca, distrito de Quinua de la provincia de Huamanga en la región de Ayacucho, durante el mes de junio.

3.2.2. Muestra

100 gramos de los rizomas y 100 gramos de hojas de *Niphidium crassifolium* L.

3.3. Procedimiento para la recolección de datos

3.3.1. Preparación del extracto de los rizomas de *N. crassifolium*

El extracto de rizomas de *N. crassifolium* se obtuvo mediante maceración dinámica con alcohol al 70° durante 4 horas en un rotavapor. Posteriormente, se filtró, se concentró y se secó utilizando un secador por aspersion Spray Dryer modelo Büchi Mini Spray Dryer B-290.

3.3.2. Preparación del extracto de las hojas de *N. crassifolium*

El extracto de hojas de *N. crassifolium* se obtuvo mediante maceración dinámica con alcohol al 70° durante cuatro horas utilizando un rotavapor. Después de ser filtrado y concentrado, el extracto fue secado empleando un secador por aspersion Spray Dryer modelo Büchi Mini Spray Dryer B-290.

3.3.3. Determinación del contenido de fenoles totales (TPC)

La cuantificación de los fenoles totales se realizó mediante espectroscopía en la región visible utilizando el método Folin-Ciocalteu.¹⁵ Se preparó una solución de 300 µg/mL en metanol del extracto seco de rizomas y del extracto seco de hojas de *N. crassifolium*, se midió 100 µL de cada solución muestra y se adicionó 500 µL reactivo Folin-Ciocalteu (1:10) y 400 µL de Na₂CO₃ 7,5%; esto se realizó por triplicado tanto para rizomas y hojas. Se dejó reposar 30 minutos y se procedió a hacer la lectura de las absorbancias a 765 nm. La concentración se calculó a partir de la curva patrón de ácido gálico ($y = 0.0095x - 0.0092$) y el contenido de fenoles totales se expresó 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 se usó el método colorimétrico de tricloruro de aluminio.²⁸ Se preparó una solución de 800 µg/mL en metanol del extracto seco de rizomas y del extracto seco de hojas de *N. crassifolium*, se midió 2,0 mL de cada solución muestra y se adicionó 0,5 mL de AlCl₃ 2% y 2,5 mL de etanol 50%; esto se realizó por triplicado tanto para rizomas y hojas. Se dejó reposar 30 minutos y se procedió a hacer la lectura de las absorbancias a 415 nm. La concentración se calculó a partir de la curva patrón de rutina ($y = 0.0386x + 0.0134$) y el TFC se expresó en miligramos equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (mg RUE/g).

3.3.5. Determinación de la actividad antioxidante

3.3.5.1. Método DPPH

Se empleó el método descrito por Rivas et al.¹⁵. Para la determinación de la actividad antioxidante de las muestras (rizomas y hojas de *N. crassifolium*) se prepararon soluciones de 25 a 250 µg/mL en metanol. Se midió 300 µL de cada solución y se añadió 2,7 mL de DPPH (40 µg/mL); se dejó reposar por 30 minutos y se procedió a hacer la lectura de las absorbancias a 515 nm, calibrando el espectrofotómetro con el blanco (metanol).

La actividad antioxidante se expresó en porcentaje, con la siguiente ecuación:

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

Donde AA% es el porcentaje de actividad antioxidante. A_c es la absorbancia del control. A_m es la absorbancia de la muestra. A_b es la absorbancia del blanco.

El porcentaje de actividad antioxidante (AA%) se comparó con el Trolox. También se realizó el cálculo de la concentración eficiente antioxidante (CE50) 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 Microsoft Excel.

3.3.5.2. Método ABTS

Se aplicó el método descrito por Rivas et al.¹⁵. Se preparó la solución del radical ABTS⁺ con una mezcla de 3 mL de la solución ABTS 7,0 mM con 3mL de solución de K₂S₂O₈ 2,45 mM, esta solución se incubó por 16 horas y se diluyó en metanol. Para la determinación de la actividad antioxidante de las muestras (rizomas y hojas de *N. crassifolium*); se prepararon soluciones de 25 a 250 µg/mL en metanol. Se midió 20 µL de cada solución y se añadió 980 µL de ABTS⁺; se dejó reposar por 7 minutos y se procedió a hacer la lectura de las absorbancias a 734 nm, calibrando el espectrofotómetro con el blanco (metanol).

El porcentaje de actividad antioxidante (AA%) se comparó con el Trolox. Los resultados se tratan de igual forma que el método DPPH.

3.3.6. Determinación de la fotoprotección solar *in vitro*

El factor de protección solar (FPS) de los rizomas y hojas se determinó en base al método espectrofotométrico *in vitro* descrito por Mansur et al.²⁹. Se preparó soluciones a 20, 100 y 200 µg/mL en metanol de rizomas y hojas de *N. crassifolium* para luego hacer la lectura de las absorbancias en el rango de 200 a 400 nm con intervalo 1,0 nm a mediana velocidad. El FPS en este método se determina en el rango UVB (290 a 320 nm).

El FPS se calculó en base a la siguiente ecuación:

$$FPS \text{ espectrofotométrico} = FC \times \sum_{290}^{320} (EE(\lambda) \times I(\lambda) \times A(\lambda))$$

Donde:

FPS = Factor de Protección Solar

FC = 10 (factor de corrección)

EE(λ) = Efecto eritemogénico de la radiación de

I(λ) = Intensidad del sol en la longitud de onda

A(λ) = Absorbancia de la solución en la longitud de onda

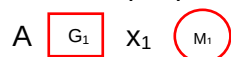
3.3. Alcance de investigación

La cuantificación del contenido de compuestos fenólicos tiene un alcance descriptivo.³⁰

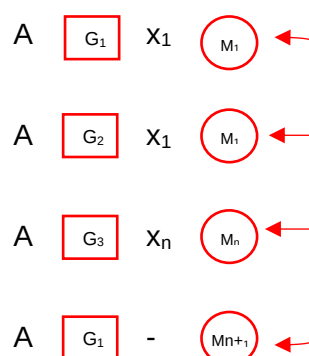
La evaluación de la actividad antioxidante y del efecto de fotoprotección solar tienen un alcance explicativo.³⁰

3.4. Diseño de investigación

La cuantificación de compuestos fenólicos presenta un diseño experimental de tipo preexperimento con posprueba únicamente:³⁰



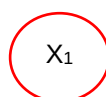
Donde A es la asignación al azar. G es el grupo de soluciones del extracto. X₁ a X_n es el tratamiento (reactivo de Folin Ciocalteu). M es la medición (Absorbancia). La evaluación de la actividad antioxidante presentan un diseño experimental puro con posprueba únicamente y grupo control:³⁰



Donde A es la asignación al azar. G es el grupo de soluciones de radical libre. X₁ es el tratamiento (concentración de extracto). M es la medición (Absorbancia). – es el control (solución de radical libre). n es el grado de manipulación de la variable independiente (concentración de extracto). es la comparación de las mediciones.³⁰

La evaluación del efecto de fotoprotección solar presentan un diseño no experimental de tipo transeccional descriptivo:³⁰

Tiempo único



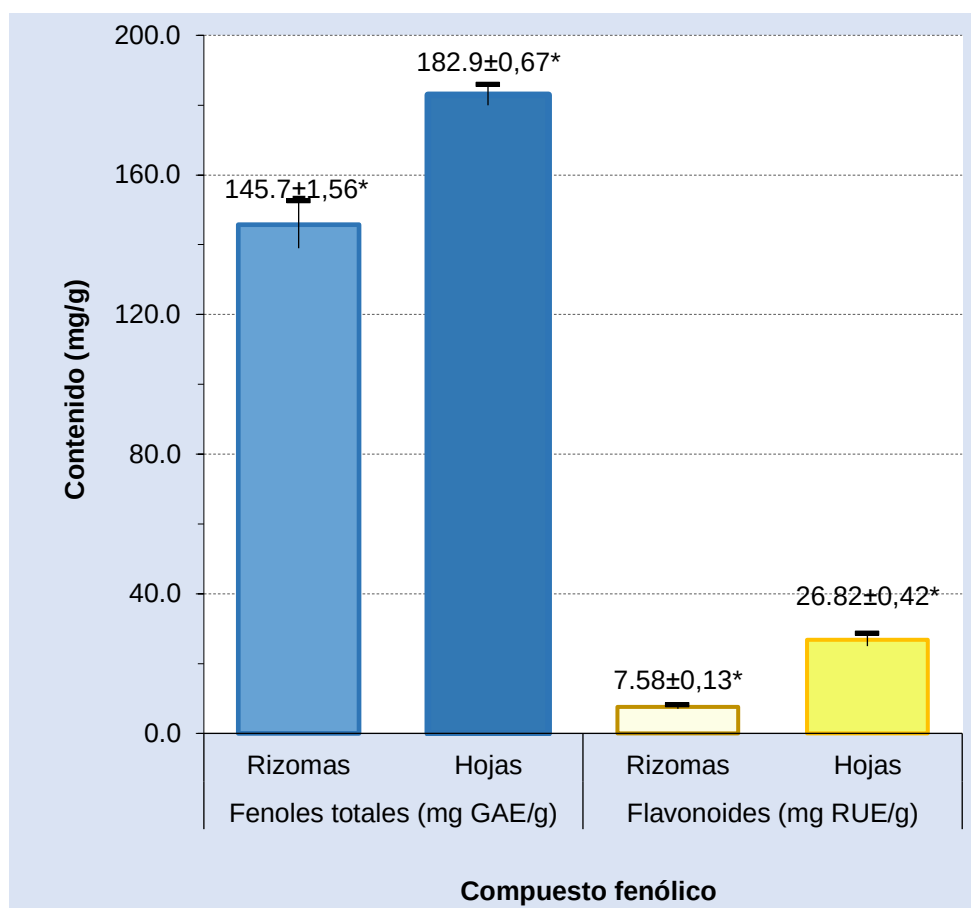
Donde X₁ es el valor de absorbancia a las longitudes de 290 a 320 nm.

3.5. Análisis estadístico

Para la evaluación del contenido de fenoles y flavonoides, se tuvo en consideración que la pregunta de investigación es de diferencia de dos grupos independientes (hojas y rizoma) y las variables se midió en escala de razón, por lo que se usó la prueba de T de Student.³⁰ Para la evaluación de la actividad antioxidante y factor de fotoprotección, la pregunta de investigación es de diferencia de más de dos grupos (hojas y rizoma a diferentes concentraciones) y

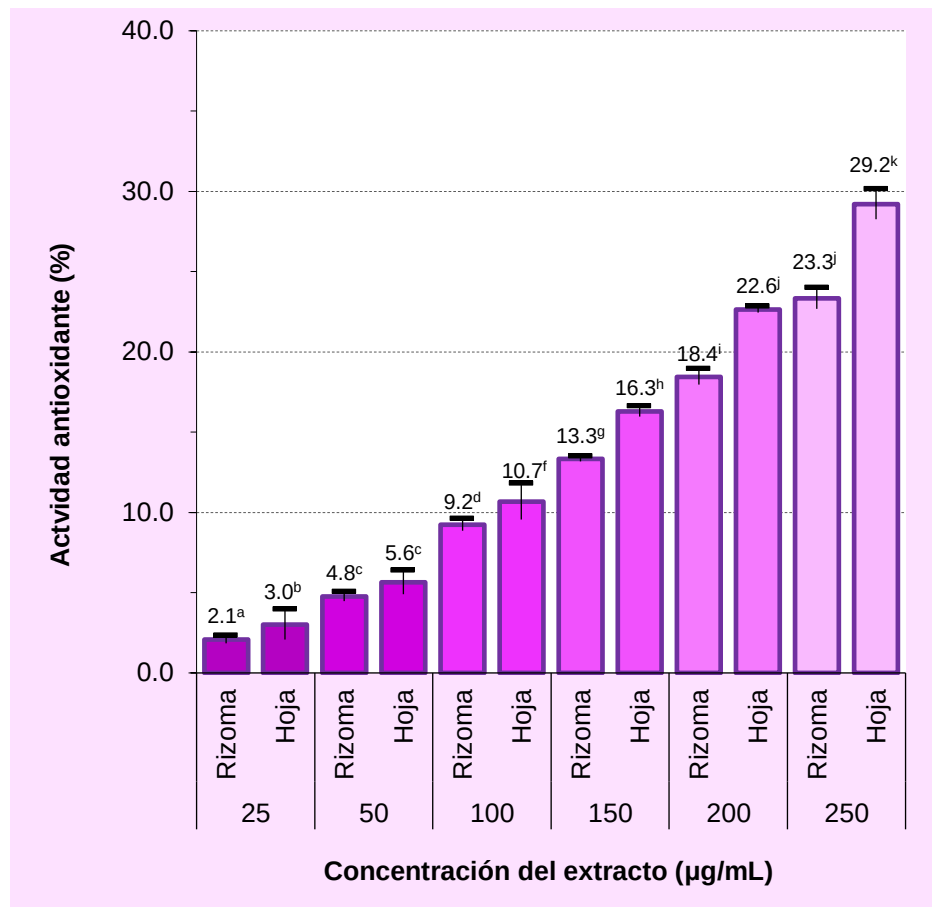
la medición de las variables en escala de razón, por lo que se usó del análisis de varianza.³⁰ Previamente se realizó las pruebas de asimetría y de homogeneidad de varianza de Levene. Posteriormente, se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.³⁰ Las pruebas se realizaron a un 95% de nivel de confianza. Los resultados se presentan Tablas y/o Figuras.

IV. RESULTADOS



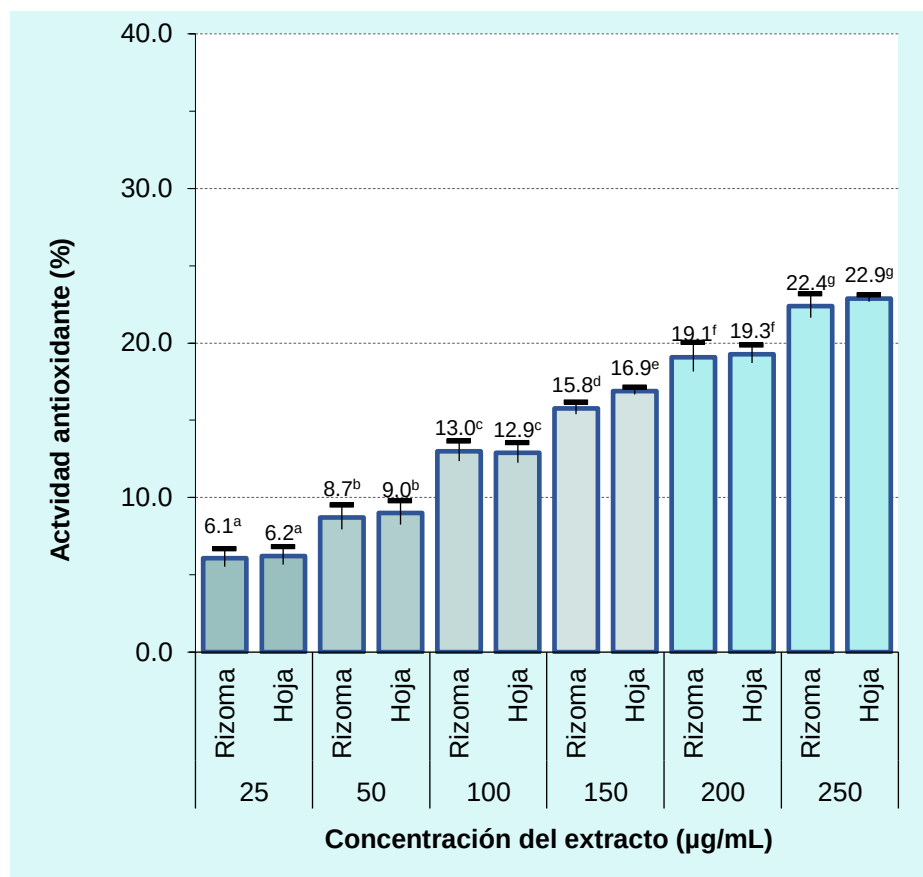
Nota: El promedio corresponde a tres repeticiones con su respectivo error estándar de la media. Los datos provienen de una distribución simétrica (coeficientes de asimetría entre -2 a 2). Las varianzas son homogéneas (Prueba Levene: p-valor > 0,05). Prueba de T de Student (p-valor < 0,05)

Figura 6. Contenido de compuestos fenólicos en rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.



Nota: El promedio corresponde a tres repeticiones con su respectivo error estándar de la media. Los datos provienen de una distribución simétrica (coeficientes de asimetría entre -2 a 2). Las varianzas son homogéneas (Prueba Levene: p-valor > 0,05). Análisis de varianza (p<0,05). Prueba de Tukey (p-valor > 0,05), las letras a, b, c, d, e, f, g, h, i, j y k representan los subconjuntos homogéneos. Actividad antioxidante de Trolox: 25 µg/mL = 20,35 ± 0,47%; 50 µg/mL = 43,54 ± 0,79%; 75 µg/mL = 70,90 ± 0,38%; 100 µg/mL = 91,91 ± 0,11%.

Figura 7. Actividad antioxidante mediante el método DPPH en rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.



Nota: El promedio corresponde a tres repeticiones con su respectivo error estándar de la media. Los datos provienen de una distribución simétrica (coeficientes de asimetría entre -2 a 2). Las varianzas son homogéneas (Prueba Levene: p-valor > 0,05). Análisis de varianza (p<0,05). Prueba de Tukey (p-valor > 0,05), las letras a, b, c, d, e, f, g representan los subconjuntos homogéneos. Actividad antioxidante de Trolox: 25 µg/mL = 20,35 ± 0,47%; 50 µg/mL = 43,54 ± 0,79%; 75 µg/mL = 70,90 ± 0,38%; 100 µg/mL = 91,91 ± 0,11%.

Figura 8. Actividad antioxidante mediante el método ABTS^{•+} en rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.

Tabla 1. Concentración eficiente antioxidante de los rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.

Droga vegetal	Concentración eficiente antioxidante (µg/mL)	
	DPPH	ABTS ^{•+}
Rizoma	538,91 ± 4,60*	637,4 ± 10,02*
Hojas	435,46 ± 3,08*	621,0 ± 3,33*

Nota: El promedio corresponde a tres repeticiones con su respectivo error estándar de la media. Prueba de T de Student (t = 18,7; p-valor < 0,05). Concentración eficiente antioxidante de Trolox: 52,37 ± 0,58* µg/mL.

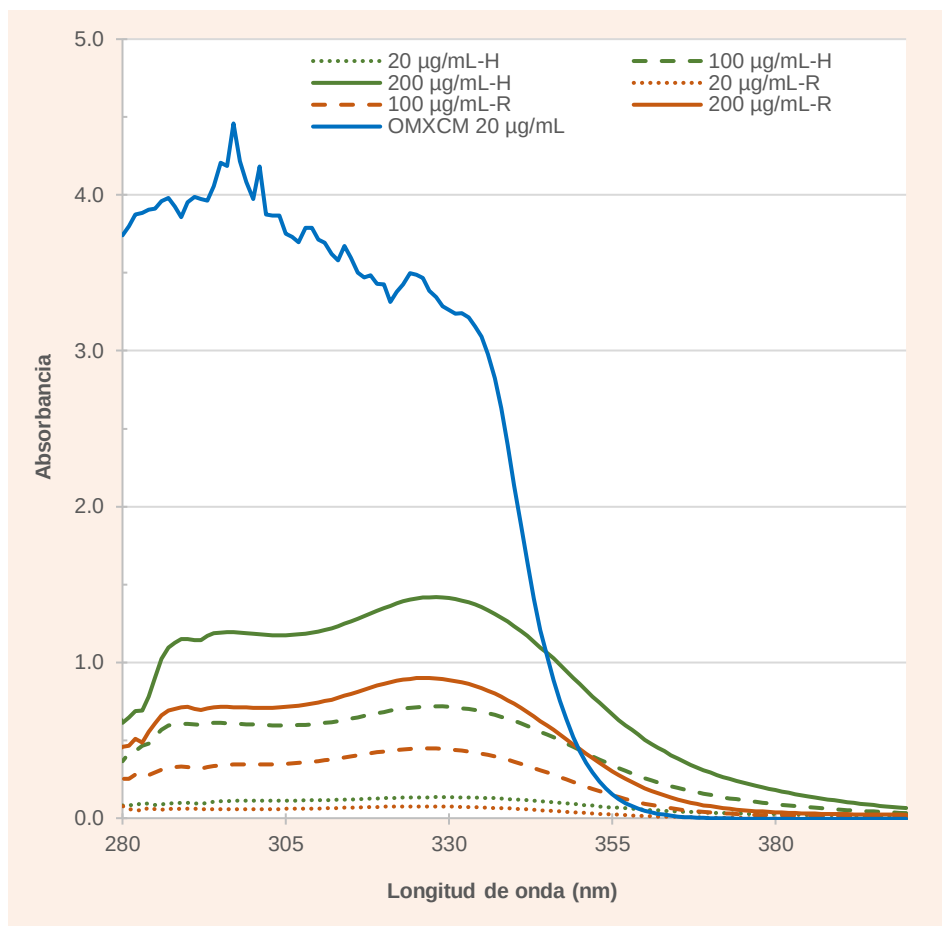
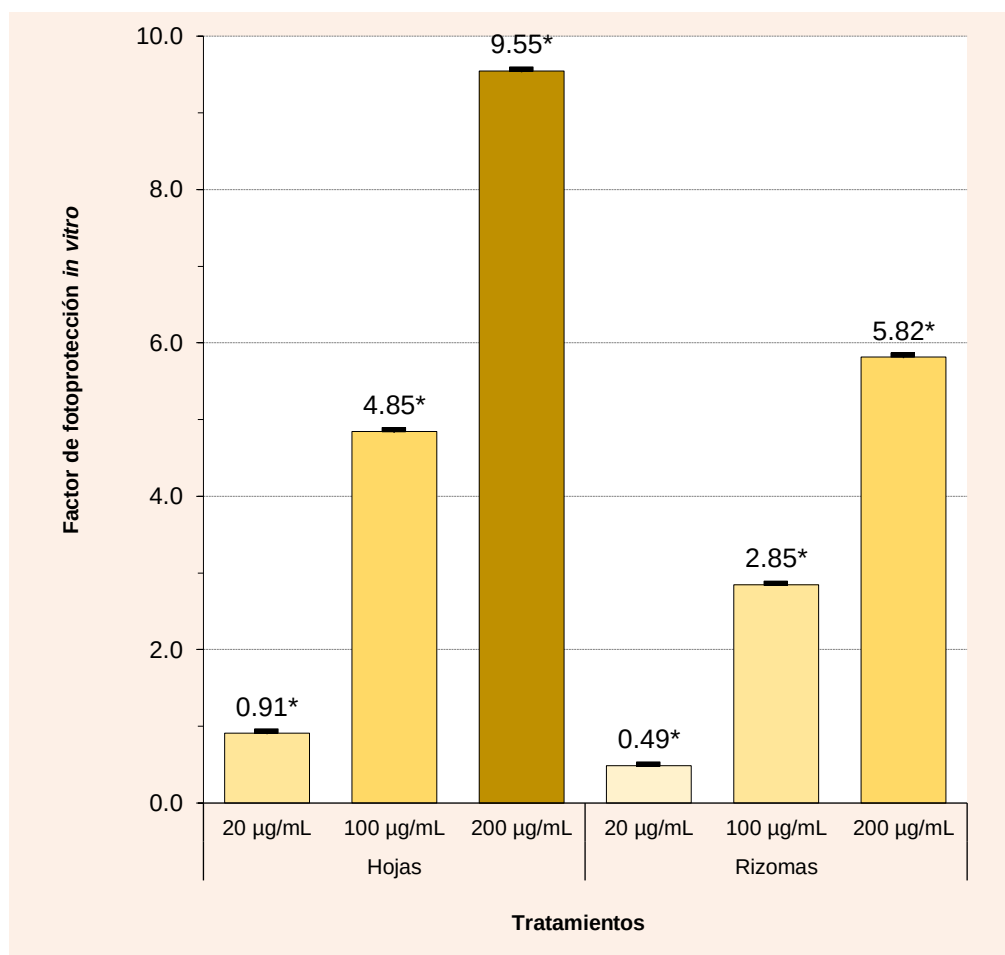


Figura 9. Barrido espectral para la evaluación de la actividad fotoprotectora *in vitro* de rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.



Nota: Factor de fotoprotección solar *in vitro* de octil metoxicinamato a 20 µg/mL=30,62

Figura 10. Factor de fotoprotección solar *in vitro* de rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.

V. DISCUSIÓN

N. crassifolium, es una especie de pteridofita que pertenece a la familia *Polypodiaceae*,¹ y aunque se haya realizado investigaciones sobre la actividad antioxidante de otras especies dentro de esta misma familia,⁷ se tiene poca información sobre el *N. crassifolium*. Es así que son limitados los estudios que han abordado específicamente la actividad antioxidante y de protección solar *in vitro* de *N. crassifolium*.

En base a los antecedentes mencionados, se realizó el presente trabajo de investigación cuyo objetivo fue determinar el contenido de polifenoles, el potencial antioxidante y de fotoprotección solar *in vitro* de las hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L., una especie que hasta la fecha cuenta con investigaciones sobre la actividad antiproliferativa,¹² actividad antiinflamatoria y cicatrizante,¹ actividad inmunomoduladora⁸ y actividad antioxidante.⁹

La composición química de *N. crassifolium* incluye una variedad de compuestos químicos como alcaloides⁸, saponinas triterpénicas, flavonoides, ácidos fenólicos, derivados floroglucínicos, esteroides, lípidos, como los ácidos grasos poliinsaturados; también mucílagos, taninos, resinas y aceite esencial.⁶ Estos compuestos son responsables de las propiedades medicinales de la planta, que incluyen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y analgésicas.⁷

Es así, que se planteó el objetivo de cuantificar el contenido de fenoles totales (TPC) y contenido de flavonoides (TFC) de los rizomas y hojas de *N. crassifolium*. Los resultados de la cuantificación de TPC y TFC se presenta en la Figura 6, en el que se ha determinado que los rizomas (rizoma distal + raíces adventicias) presentan un TPC de $145,7 \pm 1,56$ mgGAE/g de extracto seco y las hojas presentan un contenido de TPC de $182,9 \pm 0,67$ mgGAE/g de extracto seco estadísticamente superior ($p < 0,05$) a los rizomas (Anexo 2).

El TPC concuerda en cierta medida con lo reportado por Mancilla⁹, quien evaluó el TPC en un extracto atomizado de rizomas de *N. crassifolium* usando alcohol de

50°, reportando un TPC de rizoma distal de 62,3 mgGAE/g y un TPC de raíces adventicias de 121,6 mgGAE/g. De esto se deduce que el TPC obtenido de los rizomas ($145,7 \pm 1,56$ mgGAE/g) es estadísticamente superior al TPC reportado en el rizoma distal (62,3 mgGAE/g) y de las raíces adventicias (121,6 mgGAE/g). En cuanto al contenido de TPC obtenido en las hojas ($182,9 \pm 0,67$ mgGAE/g), este es estadísticamente superior a lo obtenido en rizomas ($145,7 \pm 1,56$ mgGAE/g).

Respecto al contenido de flavonoides, las hojas tienen un TFC de $26,82 \pm 0,42$ mgRUE/g de extracto seco, valor estadísticamente superior ($p < 0,05$) al rizoma con un TFC de $7,58 \pm 0,42$ mgRUE/g de extracto seco (Anexo 2).

El TFC coincide en cierta proporción con lo registrado por Mancilla⁹, quien reportó un TFC de 17,4 mgRUE/g para rizoma distal y un TFC de 54,0 mgRUE/g para raíces adventicias. De esto se puede inferir que el TFC obtenido de los rizomas ($7,58 \pm 0,42$ mgRUE/g) es estadísticamente inferior al TPC reportado en el rizoma distal (17,4 mgRUE/g) y de las raíces adventicias (54,0 mgRUE/g).

En relación con el contenido de TFC obtenido en las hojas ($26,82 \pm 0,42$ mgRUE/g) este es estadísticamente superior a lo obtenido en rizomas ($7,58 \pm 0,42$ mgRUE/g).

Es así como se evidencia que el contenido de TPC es superior al contenido de TFC, esto debido a que el TPC es la cuantificación de todos los compuestos fenólicos mientras que los flavonoides son un tipo de polifenol. Asimismo, se deduce que los metabolitos secundarios de las especies vegetales se encuentran en mayor concentración en algunas partes y en menor concentración en otras y también depende de la madurez de planta y de la recolección de esta.

Por otro lado, la actividad antioxidante se determinó con los métodos del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y ácido 2,2-azino-bis-(3'-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), la evaluación de la actividad antioxidante, utilizando radicales libres estables como el DPPH• y ABTS•⁺, permiten jerarquizar preliminarmente a las especies vegetales de acuerdo a su actividad antioxidante.¹⁵ Asimismo, la actividad antioxidante está correlacionada con el contenido total de fenoles.^{20,31}

La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de actividad antioxidante (%AA) y como concentración eficiente antioxidante (CE50). Es así como, un valor menor de la CE50 en comparación al Trolox representa una mayor actividad antioxidante (la relación es inversamente proporcional). Además, se realizó la actividad antioxidante de Trolox a concentraciones de 25, 50, 75 y 100 µg/mL.

La determinación de la actividad antioxidante de la muestra por el método DPPH, se realizó a concentraciones de 25, 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL (Figura 7) del extracto seco, en el cual se evidencia que el rizoma presenta un porcentaje de actividad antioxidante de 23,3% a una concentración de 250 µg/mL estadísticamente inferior al porcentaje de actividad antioxidante de las hojas 29,2% a una concentración de 250 µg/mL. En relación con la CE50 (Tabla 1) los rizomas presentan un 538,91 µg/mL y las hojas un 435,46 µg/mL, siendo ambos superiores al Trolox (52,37 µg/mL) por ende presentan menor actividad antioxidante.

Cabanillas y Chávez,⁵ en la determinación de la actividad antioxidante por DPPH en los rizomas de *Niphidium albopunctatissimum*, reportaron un porcentaje de actividad antioxidante de 92,1% a una concentración de 100 µg/mL que es superior a lo obtenido en los rizomas (9,2%) de *N. crassifolium* a una concentración de 100 µg/mL, esto debido al tipo de extracción que se realizó además de que se tratan de especies diferentes.

Por otro lado, Mancilla⁹ en la determinación de la actividad antioxidante por DPPH en los rizomas de *N. crassifolium*, reportó un porcentaje de actividad antioxidante de 22,38% para rizoma distal a una concentración de 250 µg/mL siendo estadísticamente inferior a lo obtenido en los rizomas (23,3%) a una concentración de 250 µg/mL. Asimismo, reportó que las raíces adventicias tienen una actividad antioxidante de 46,11% a una concentración de 250 µg/mL, siendo estadísticamente inferior a lo que se obtuvo en los rizomas (23,3%).

Respecto a la determinación de la actividad antioxidante de la muestra por el método ABTS, se realizó a concentraciones de 25, 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL (Figura 8) del extracto seco, en el cual se evidencia que el rizoma presenta un porcentaje de actividad antioxidante de 22,4% a una concentración de 250 µg/mL estadísticamente inferior al porcentaje de actividad antioxidante de las hojas que evidenció un 22,9% a una concentración de 250 µg/mL. En cuanto a la CE50 (Tabla 1) los rizomas presentan un 637,4 µg/mL y las hojas un 621,0 µg/mL, siendo ambos superiores al Trolox (52,37 µg/mL) por ende presentan menor actividad antioxidante.

Estos resultados se comparan con lo reportado por Mancilla⁹ en la determinación de la actividad antioxidante por ABTS en los rizomas de *N. crassifolium*, quien encontró un porcentaje de actividad antioxidante de 17,7% para rizoma distal a una concentración de 250 µg/mL siendo estadísticamente inferior a lo obtenido en

los rizomas (22,4%) a una concentración de 250 µg/mL. Asimismo, reportó que las raíces adventicias tienen una actividad antioxidante de 26,4% a una concentración de 250 µg/mL, siendo estadísticamente superior a lo que se obtuvo en los rizomas (22,4%).

De esto inferimos que la actividad antioxidante determinada por los métodos DPPH y ABTS resultan ser inferiores en comparación a la actividad antioxidante del Trolox. Además, los valores de porcentaje de actividad antioxidante podrían ser superior o inferior dependiendo de la parte de la especie vegetal, pero se confirma la actividad antioxidante de los rizomas y hojas de *N. crassifolium*.

La actividad fotoprotectora, se debe también a los compuestos fenólicos, tales como, ácidos fenólicos, derivados de ácido benzoico, derivados de ácido cinámico, ácido clorogénico⁷. Los flavonoides que actúan como filtros solares ya que absorben la radiación ultravioleta²² y es así que la capacidad fotoprotectora de los compuestos fenólicos está fuertemente relacionada con sus propiedades antioxidantes.⁶

En la Figura 9, se puede observar el barrido espectral de los rizomas y hojas de *N. crassifolium* a concentraciones de 20, 100 y 200 µg/mL y la solución estándar de octil metoxicinamato a concentración de 20 µg/mL. Estos fueron leídos en el espectrofotómetro en el rango de 290 a 320 nm, para así determinar las absorbancias en esta región UVB, características de los compuestos químicos con actividad fotoprotectora *in vitro* según Mansur et al.²⁹

En la Figura 10, se observa que el FPS *in vitro* de las hojas a 200 µg/mL (9,55) es superior al FPS *in vitro* de los rizomas a 200 µg/mL (5,82). Asimismo, se puede afirmar que FPS *in vitro* de las hojas a 20 µg/mL (0,91) y el FPS *in vitro* de los rizomas a 20 µg/mL (0,49) son inferiores al FPS del octil metoxicinamato a 20 µg/mL (30,62).

El FPS de los rizomas de *N. crassifolium* a FPS a 20 µg/mL (0,49) y el FPS de las hojas de *N. crassifolium* a FPS a 20 µg/mL (0,91) es inferior en comparación a lo encontrado al FPS por Tinco³² en la *Calceolaria rupestris* Molau (FPS igual a 5,19 a 20 µg/mL) y por Venegas³³ en las hojas de *Solanum nitidum* R. & P. (FPS igual 1,72 a 20 µg/mL). De esto se infiere que el FPS depende del tipo de planta a la cual se investiga y el tratamiento que se hace a la misma. Asimismo, se puede afirmar que *Niphidium crassifolium* presenta actividad fotoprotectora *in vitro*.

De forma natural las plantas sintetizan compuestos químicos que les confieren propiedades antioxidantes como los polifenoles, alcaloides y aceites esenciales.¹⁵

Asimismo, estos compuestos también poseen efecto protector frente a radiaciones UV como los fenoles, flavonoides, isoflavonoides, antocianos, taninos, terpenos y ácidos grasos insaturados.⁶ Afirmándose así que la actividad antioxidante está relacionada con la presencia de polifenoles o compuestos fenólicos²⁰ y a su vez el efecto fotoprotector se debe a sus propiedades antioxidantes.⁶

Al respecto Gonzáles et al.,³⁴ nos indican que la capacidad fotoprotectora de las hojas de *P. leucotomos* radica en su composición de ácidos fenólicos, derivados de ácido benzoico y derivados de ácido cinámico que a su vez le confieren acción antioxidante. Así también, Farrás⁷ encontró una elevada cantidad ácido clorogénico en *P. vulgare*, confirmando así su efecto fotoprotector y antioxidante. Del mismo modo Carretero y Ortega⁶ reportaron que la actividad antioxidante y efecto fotoprotector de las hojas de *P. leucotomos* se debe a los componentes fenólicos como el ácido cafeico o el ferúlico. Por otro lado, Mancilla⁹ identificó los siguientes compuestos químicos en los rizomas de *N. crassifolium*: compuestos fenólicos, taninos, catequinas, triterpenos, saponinas, aminoácidos, quininas, flavonoides.

Por lo tanto, la actividad antioxidante y fotoprotectora que presentan los rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L., las hojas de *Polypodium vulgare*⁷ y los rizomas de *Niphidium albopunctatissimum* L.³⁵; se deben a los polifenoles que son los que confieren actividad antioxidante y efecto fotoprotector. Así se concluye que la familia *Polypodiaceae* presenta significativa actividad fotoprotectora y antioxidante.

VI. CONCLUSIONES

1. Los rizomas y hojas de *N. crassifolium* L. presentan polifenoles con potencial antioxidante y de fotoprotección solar *in vitro*.
2. Los rizomas de *N. crassifolium* L. presentan un contenido de fenoles totales de $145,7 \pm 1,56$ mgGAE/g de extracto seco; asimismo, un contenido de flavonoides de $7,58 \pm 0,42$ mgRUE/g de extracto seco.
3. Las hojas de *N. crassifolium* L. presentan un contenido de fenoles totales de $182,9 \pm 0,67$ mgGAE/g de extracto seco; asimismo, un contenido de flavonoides de $26,82 \pm 0,42$ mgRUE/g de extracto seco.
4. Los rizomas de *N. crassifolium* L. presentan menor actividad antioxidante por los métodos de DPPH y ABTS en comparación a las hojas. A su vez los rizomas y hojas presentan menor actividad antioxidante en comparación al Trolox.
5. Los rizomas de *N. crassifolium* L. presentan efecto de fotoprotección solar *in vitro*, con un FPS a 200 µg/mL de 5,82 que es inferior al FPS de las hojas a 200 µg/mL de 9,55.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones sobre la composición química de las hojas de *Niphidium crassifolium* L.
2. Realizar el fraccionamiento del extracto de los rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L. para así determinar que extracto presenta mayor contenido de fenoles, mejor actividad antioxidante y actividad fotoprotectora *in vitro*.
3. Formular un protector solar a base de las hojas de *Niphidium crassifolium* L. con su respectivo diseño y estudios de estabilidad.
4. Seguir realizando más estudios sobre las especies que pertenecen a la familia *Polypodiaceae*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vargas C. Identificación de metabolitos secundarios y evaluación del efecto antiinflamatorio y cicatrizante del extracto etanólico de rizomas de *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger “Calaguala” [Internet]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2022 [citado 4 de junio de 2024]. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/18629/Vargas_cc.pdf?sequence=3&isAllowed=y
2. Gómez RZ, Vargas TJM. Vegetación: Mesozonificación ecológica y económica para el desarrollo sostenible del ámbito del río Apurímac (VRA). 2010;104.
3. Ramírez B, Macías D. Catálogo de helechos y plantas afines del departamento de Cauca. 2007 [citado 5 de junio de 2024]; Disponible en: https://facultades.unicauca.edu.co/museonatural/sites/default/files/documentos/catalogo_helechos.pdf
4. Navarrete H, León B, Gonzales J, Aviles D, Lecaro J, Mellado F, et al. Helechos. En: Botánica Económica de Los Andes Centrales [Internet]. 2006 [citado 5 de junio de 2024]. p. 385-411. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/290435811_Helechos
5. Cabanillas Y, Chávez L. Determinación preliminar de fitoconstituyentes en rizomas de *Niphidium albopunctatissimum* Lellinger y su actividad frente al radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo [Internet]. [Trujillo]: Universidad Nacional de Trujillo; 2018 [citado 5 de junio de 2024]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/server/api/core/bitstreams/d747c059-c845-4c40-89f9-cd3251dd50c1/content>
6. Carretero M, Ortega T. Plantas medicinales frente al daño solar. 2018 [citado 5 de junio de 2024]; Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6516019>
7. Farrás A. Fitocaracterización y actividad biológica de extractos de helechos de las familias Polypodiaceae y Aspleniaceae procedentes de las montañas de Prades (Tarragona). Tesis Doctoral - Departamento - Bioquímica i Fisiologia [Internet]. 24 de octubre de 2022 [citado 6 de junio de 2024]; Disponible en: <https://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/191324>
8. Portal M. Actividad inmunomoduladora in vitro de diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico de *Niphidium crassifolium* “calaguala” sobre células del sistema inmune [Internet]. [Cajamarca]; 2024 [citado 4 de junio de 2024].

- 2024]. Disponible en:
https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/6367/ELVIRA%20PORTAL_TESIS_2024.pdf?sequence=1&isAllowed=y
9. Mancilla R. Perfil químico y potencial antioxidante de los rizomas de *Niphidium crassifolium* L. [Internet]. [Ayacucho]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2023 [citado 5 de junio de 2024]. Disponible en:
<https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/95e3745f-18cc-4df1-95fd-e54aa7773d1c/content>
 10. Zárate-Martínez W, González-Morales S, Ramírez-Godina F, Robledo-Olivo A, Juárez-Maldonado A. Efecto de los ácidos fenólicos en el sistema antioxidante de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Agronomía Mesoamericana*. 2021;32(3):854-68.
 11. Gudiel L. Evaluación Fitoquímica y actividad antioxidante de *Polypodium triseriale* SW (calahuala) [Internet]. [Guatemala]: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2009 [citado 5 de junio de 2024]. Disponible en:
http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2846.pdf
 12. 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*. 26 de mayo de 2015;166:185-99.
 13. Sureshkumar J, Silambarasan R, Bharati KA, Krupa J, Amalraj S, Ayyanar M. A review on ethnomedicinally important pteridophytes of India. *Journal of Ethnopharmacology*. 12 de junio de 2018;219:269-87.
 14. Díaz L, Domínguez G, Fuentes R, Hernández F, Montero J, Ortega J, et al. Manual de prácticas de laboratorio: Helechos y Gimnospermas [Internet]. México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; 2019 [citado 27 de agosto de 2024]. Disponible en:
http://bios.biologia.umich.mx/assets/files/manual_pteridofitas_y_gimnospermas_2024b.pdf
 15. Rivas C, Oranday M, Verde M. Investigación en plantas de importancia médica. En México; 2016 [citado 16 de junio de 2024]. p. 351-410. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/316860979_investigacion_en_plantas_de_importancia_medica

16. Vera-Navarro L. Actualización en fotoprotección. Cuadernos Hospital de Clínicas. junio de 2022;63(1):64-75.
17. Rojas A. Aportes a la Flora Pteridophyta Neotrópica: Notas sobre el género *Niphidium* (Polypodiaceae). Brenesia. 1 de enero de 1996;45-46:27-32.
18. Gupta MP, Solís PN, Calderón AI, Guineau-Sinclair F, Correa M, Galdames C, et al. Medical Ethnobotany of the Teribes of Bocas del Toro, Panama. *Journal of Ethnopharmacology*. 15 de enero de 2005;96(3):389-401.
19. Tene V, Malagón O, Finzi PV, Vidari G, Armijos C, Zaragoza T. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchipe, Ecuador. *Journal of Ethnopharmacology*. 20 de abril de 2007;111(1):63-81.
20. Martin D. Los compuestos fenólicos: Un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. 2018 [citado 12 de junio de 2024];9(1). Disponible en: <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
21. Gutiérrez V, R J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*. junio de 2002;31(2):126-33.
22. Mejía J, Atehortúa L, Puertas M. Fotoprotección: mecanismos bioquímicos, punto de partida hacia mejores filtros solares [Internet]. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*. 2014 [citado 5 de julio de 2024]. Disponible en: <https://dcmq.com.mx/edici%C3%B3n-octubre-diciembre-2014-volumen-12-n%C3%BAmero-4/314-foto-protecci%C3%B3n-mecanismos-bioqu%C3%ADmicos,-punto-de-partida-hacia-mejores-filtros-solares>
23. Castro TN de, Mota MD, Laignier EC. Atividade fotoprotetora e antioxidante de compostos fenólicos: uma revisão sistemática de testes in vitro. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* [Internet]. 23 de octubre de 2022 [citado 3 de septiembre de 2024];51(2). Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/97604>
24. Munteanu I, Apretei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. 2021 [citado 5 de diciembre de 2024]; Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
25. Dominguez-López I, Pérez M, Lamuela-Raventós RM. Total (poly)phenol analysis by the Folin-Ciocalteu assay as an anti-inflammatory biomarker in biological samples. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 24 de octubre de 2024;64(27):10048-54.

26. Sepahpur S, Abdul, Kathib. Comparative Analysis of Chemical Composition, Antioxidant Activity and Quantitative Characterization of Some Phenolic Compounds in Selected Herbs and Spices in Different Solvent Extraction Systems. ResearchGate [Internet]. 22 de octubre de 2024 [citado 5 de diciembre de 2024]; Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/323151793_Comparative_Analysis_of_Chemical_Composition_Antioxidant_Activity_and_Quantitative_Characterization_of_Some_Phenolic_Compounds_in_Selected_Herbs_and_Spices_in_Different_Solvent_Extraction_Systems
27. Cañada D. Determinación de la composición química y la capacidad antioxidante de un complemento alimenticio basado en hoja de olivo [Internet]. [España]: Universidad de Jaén; 2019 [citado 5 de diciembre de 2024]. Disponible en: https://crea.ujaen.es/bitstream/10953.1/10446/1/TFG_Canada_Blanca_David.pdf
28. Montané Ojeda C, Arias Ramos D, Chil Núñez I. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en un extracto blando de flores de *Calendula officinalis* Linn. OJ. 18 de marzo de 2021;2(3):20-31.
29. Mansur J de S, Breder MNR, Mansur MC d'Ascensão, Azulay RD. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. An bras dermatol. 1986;121-4.
30. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio M. Metodología de la investigación científica [Internet]. 6 ta. México; [citado 12 de julio de 2024]. Disponible en: <https://www.esup.edu.pe/wp-content/uploads/2020/12/2.%20Hernandez,%20Fernandez%20y%20Baptista-Metodolog%C3%ADa%20Investigacion%20Cientifica%206ta%20ed.pdf>
31. Tanase C, Coșarcă S, Muntean DL. A Critical Review of Phenolic Compounds Extracted from the Bark of Woody Vascular Plants and Their Potential Biological Activity. Molecules. 26 de marzo de 2019;24(6):1182.
32. Tinco Carrasco Liseth Zulma. Factor de protección solar in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau [Internet]. [Ayacucho]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2023 [citado 7 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/11d0b743-0c60-4eba-a7b8-556cd5164f18/content>

33. Venegas Calle Roli. Actividad fotoprotectora in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R.&P. [Internet]. [Ayacucho]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2023 [citado 7 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/30e67e37-3f21-45d4-b829-f997d63b4a57/content>
34. Gonzalez S, Gilaberte Y, Philips N. Mechanistic insights in the use of a Polypodium leucotomos extract as an oral and topical photoprotective agent. Photochem Photobiol Sci. abril de 2010;9(4):559-63.
35. Cabanillas Zambrano Livia del Carmen. Diseño y estabilidad de un protector solar a base de rizomas de *Niphidium albopunctatissimum* Lellinger "calaguala" [Internet]. [Perú]: Universidad San Pedro; 2023 [citado 7 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.usanpedro.edu.pe/server/api/core/bitstreams/3ff5d170-d652-40d4-b64e-565ec1279b60/content>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Identificación taxonómica de *Niphidium crassifolium* L.

CONSTANCIA

LA BIOLOGA 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:

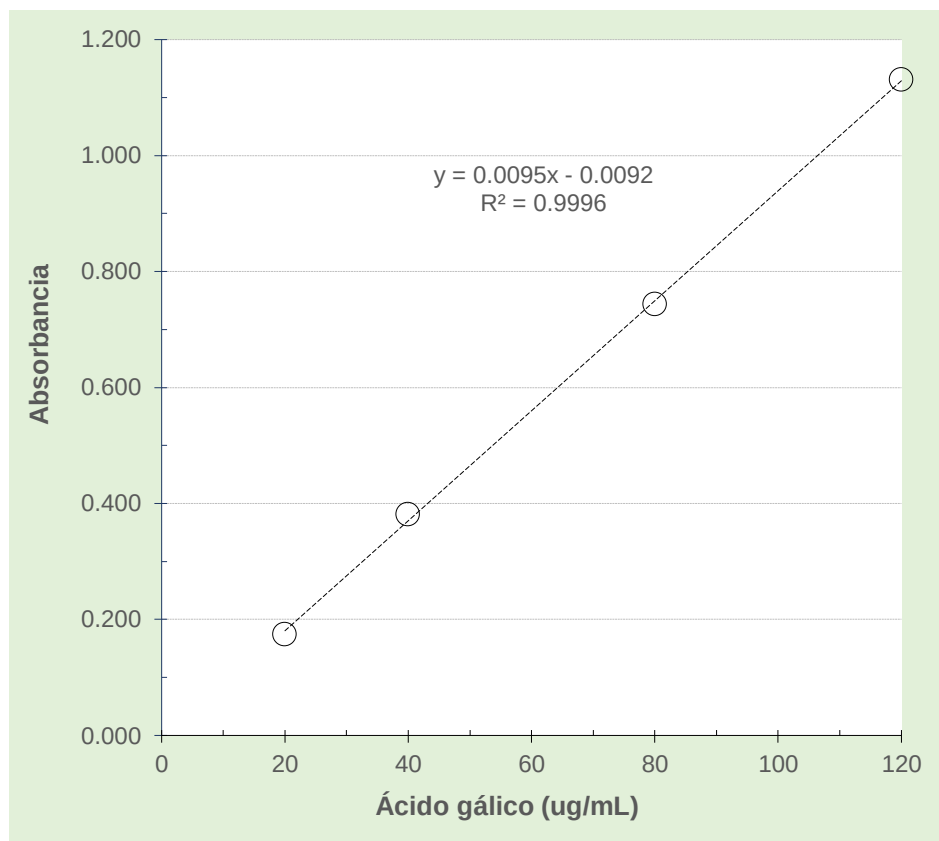
DIVISIÓN	:	PTERIDOPHYTA
CLASE	:	PTERIDOPSIDA
ORDEN	:	POLYPODIALES
FAMILIA	:	POLYPODIACEAE
GENERO	:	Niphidium
ESPECIE	:	<i>Niphidium crassifolium</i> (L.) Lellinger
N.V.	:	"calahuala"

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

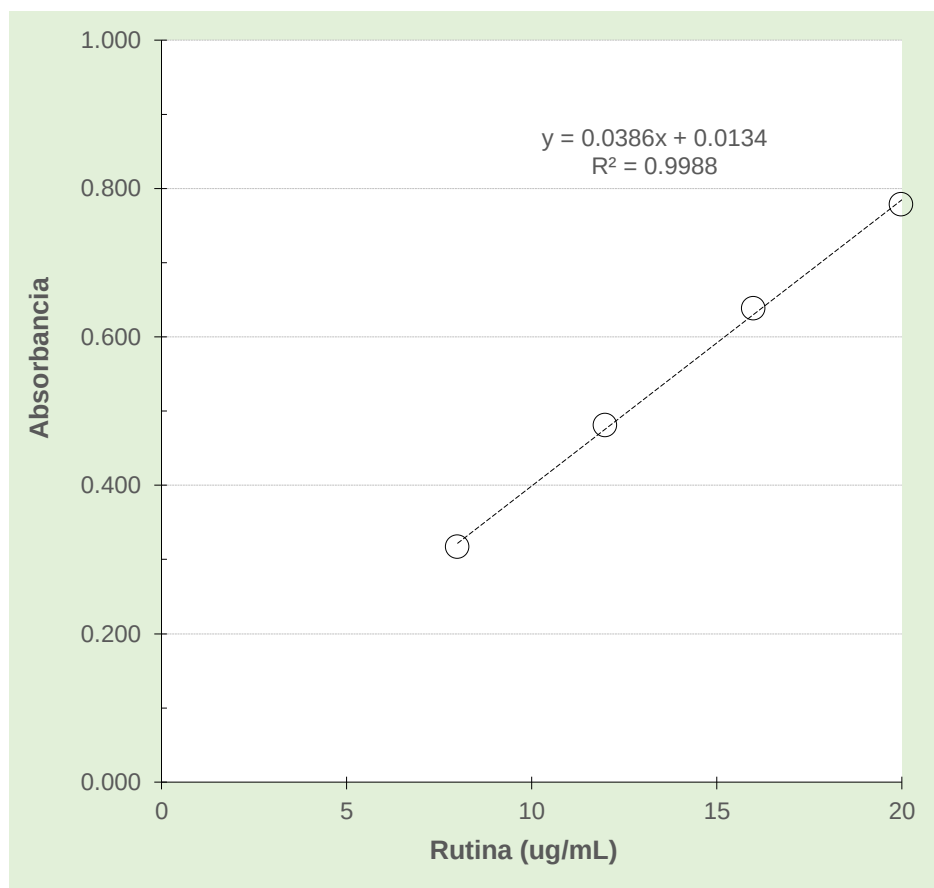
Ayacucho, 16 de Enero del 2020


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

Anexo 2. Curva de calibración del ácido gálico para la determinación de fenoles totales de los rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.



Anexo 3. Curva de calibración de rutina para la determinación de flavonoides de los rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.



Anexo 4. Análisis de datos del contenido de compuestos fenólicos en rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.

	TPC Rizoma	TPC Hojas	TFC Rizoma	TFC Hojas
N	3,000	3,000	3,000	3,000
Asimetría	1,469	-1,732	1,472	-1,708
Error estándar de asimetría	1,225	1,225	1,225	1,225
Coefficiente de asimetría	1,199	-1,414	1,202	-1,394

Nota: TPC es el contenido de fenoles totales. TFC es el contenido de flavonoides. Se considera que los datos provienen de una distribución normal si el coeficiente de asimetría está en el rango de -2 a 2.

Descriptivos

		N	Media	Desv. Desviación	Error estándar de la media	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
TPC	Rizoma	3	145,73	2,70	1,56	139,02	152,45	143,70	148,80
	Hojas	3	182,93	1,15	0,67	180,06	185,80	181,60	183,60
TFC	Rizoma	3	7,58	0,22	0,13	7,04	8,12	7,42	7,83
	Hojas	3	26,81	0,72	0,42	25,02	28,61	25,98	27,27

Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene

		Levene	gl1	gl2	p-valor
TPC	Se basa en la media	3,390	1	4	0,139
TFC	Se basa en la media	6,938	1	4	0,058

Nota: gl son los grados de libertad. Si p-valor es mayor a 0,05 se acepta de hipótesis nula (las varianzas son homogéneas).

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
TPC	Entre grupos	2075,760	1	2075,760	480,685	2,6x10 ⁻⁵
	Dentro de grupos	17,273	4	4,318		
	Total	2093,033	5			
TFC	Entre grupos	554,689	1	554,689	1947,417	2,0x10 ⁻⁶
	Dentro de grupos	1,139	4	,285		
	Total	555,829	5			

Nota: Si p-valor es menor a 0,05 se acepta de hipótesis alterna (por lo menos uno de los promedios es diferente del resto).

Estadísticas de grupo

	Factor	N	Media	Desviación estándar	Error estándar de la media
TPC	Rizoma	3	145,73	2,70	1,56
	Hojas	3	182,93	1,15	0,67
TFC	Rizoma	3	7,58	0,22	0,13
	Hojas	3	26,81	0,72	0,42

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene		prueba t para la igualdad de medias						
		F	p-valor	t	gl	p-valor (bilateral)	Diferencia de medias	Error estándar de la media	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
TPC	Se asumen varianzas iguales	3,390	0,139	-21,93	4,00	2,6x10⁻⁵	-37,20	1,60	-41,91	-32,49
	No se asumen varianzas iguales			-21,93	2,71	3,9x10⁻⁴	-37,20	1,69	-42,95	-31,45
TFC	Se asumen varianzas iguales	6,938	0,058	-44,13	4,00	2,0x10⁻⁶	-19,23	0,43	-20,44	-18,02
	No se asumen varianzas iguales			-44,13	2,36	1,7x10⁻⁴	-19,23	0,43	-20,86	-17,60

Nota: Si p-valor es menor a 0,05 se acepta de hipótesis alterna (ambos promedios son estadísticamente diferentes).

Anexo 5. Análisis de datos de la actividad antioxidante mediante el método DPPH de los rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.

Estadísticos						
	R 25	R 50	R 100	R 150	R 200	R 250
N	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Asimetría	0,935	-1,732	1,732	$1,9 \times 10^{-13}$	-0,935	0,048
Error estándar de asimetría	1,225	1,225	1,225	1,225	1,225	1,225
Coefficiente de asimetría	0,763	-1,414	1,414	$1,5 \times 10^{-13}$	-0,763	0,039

Nota: R es rizoma. Se considera que los datos provienen de una distribución normal si el coeficiente de asimetría está en el rango de -2 a 2.

	H 25	H 50	H 100	H 150	H 200	H 250
N	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Asimetría	-1,218	-,286	-1,369	$1,9 \times 10^{-13}$	-1,732	-1,218
Error estándar de asimetría	1,225	1,225	1,225	1,225	1,225	1,225
Coefficiente de asimetría	-0,994	-0,233	-1,118	$1,5 \times 10^{-13}$	-1,414	-0,994

Nota: H es hojas. Se considera que los datos provienen de una distribución normal si el coeficiente de asimetría está en el rango de -2 a 2.

Prueba de homogeneidad de varianzas					
Estadístico de					
Levene					
AA_R_H	Se basa en la media	gl1	gl2	p-valor	
		11	24	0,069	

ANOVA					
AA_R_H	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	2586,950	11	235,177	2506,182	$6,38 \times 10^{-4}$
Dentro de grupos	2,252	24	0,094		
Total	2589,202	35			

Nota: Si p-valor es menor a 0,05 se acepta de hipótesis alterna (por lo menos uno de los promedios es diferente del resto).

HSD Tukey ^a												
			Subconjunto para alfa = 0.05									
Factor	DPPH	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
25-R	3		2,09									
25-H	3			3,02								
50-R	3				4,76							
50-H	3				5,65							
100-R	3					9,23						
100-H	3						10,67					
150-R	3							13,33				
150-H	3								16,29			
200-R	3									18,44		
200-H	3										22,64	
250-R	3										23,33	
250-H	3											29,20
p-valor			1,00	1,00	,06	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,25	1,00

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo 6. Análisis de datos de la actividad antioxidante mediante el método ABTS^{•+} de los rizomas y hojas de *Nipidium crassifolium* L.

	R 50	R 100	R 150	R 200	R 250
Asimetría	-1,278	-1,732	1,732	-0,973	1,732
Error estándar de asimetría	1,225	1,225	1,225	1,225	1,225
Coefficiente de asimetría	-1,043	-1,414	1,414	-0,794	1,414

Nota: R es rizoma. Se considera que los datos provienen de una distribución normal si el coeficiente de asimetría está en el rango de -2 a 2.

	H 25	H 50	H 100	H 150	H 200	H 250
Asimetría	-898	1,325	-1,732	-,103	-0,524	-1,278
Error estándar de asimetría	1,225	1,225	1,225	1,225	1,225	1,225
Coefficiente de asimetría	-0,733	1,082	-1,414	-0,084	-0,428	-1,043

Nota: H es hoja. Se considera que los datos provienen de una distribución normal si el coeficiente de asimetría está en el rango de -2 a 2.

Descriptivos

CE50ABTS								
				95% del intervalo de confianza para la media				
	N	Media	Desv. Desviación	Error estándar de la media	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
25-R	3	6,2267	0,22368	0,12914	5,6710	6,7823	6,03	6,47
50-R	3	9,0033	0,30665	0,17704	8,2416	9,7651	8,66	9,25
100-R	3	12,8933	0,25403	0,14667	12,2623	13,5244	12,60	13,04
150-R	3	16,8867	0,08083	0,04667	16,6859	17,0875	16,84	16,98
200-R	3	19,2700	0,21932	0,12662	18,7252	19,8148	19,03	19,46
250-R	3	22,8700	0,08660	0,05000	22,6549	23,0851	22,82	22,97
25-H	3	6,0833	0,22368	0,12914	5,5277	6,6390	5,84	6,28
50-H	3	8,7100	0,30265	0,17474	7,9582	9,4618	8,47	9,05
100-H	3	12,9933	0,25403	0,14667	12,3623	13,6244	12,70	13,14
150-H	3	15,7667	0,14503	0,08373	15,4064	16,1269	15,62	15,91
200-H	3	19,0767	0,36692	0,21184	18,1652	19,9882	18,69	19,42
250-H	3	22,3833	0,30665	0,17704	21,6216	23,1451	22,04	22,63
Total	36	14,3469	5,79125	0,96521	12,3875	16,3064	5,84	22,97

Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene				
		gl1	gl2	p-valor
CE50ABTS	Se basa en la media	1,147	11	24
	Se basa en la mediana	0,304	11	24

Nota: gl son los grados de libertad. Si p-valor es mayor a 0,05 se acepta de hipótesis nula (las varianzas son homogéneas).

ANOVA

CE50ABTS					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	1172,398	11	106,582	1760,225	5,39 x10 ⁻⁵
Dentro de grupos	1,453	24	,061		
Total	1173,851	35			

Nota: Si p-valor es menor a 0,05 se acepta de hipótesis alterna (por lo menos uno de los promedios es diferente del resto).

CE50ABTS

HSD Tukey ^a							
Subconjunto para alfa = 0.05							
FACTOR ABTS	N	1	2	3	4	5	6
25-H	3	6,0833					
25-R	3	6,2267					
50-H	3		8,7100				
50-R	3		9,0033				
100-R	3			12,8933			
100-H	3			12,9933			
150-H	3				15,7667		
150-R	3					16,8867	
200-H	3						19,0767
200-R	3						19,2700
250-H	3						22,3833
250-R	3						22,8700
p-valor		1,000	0,938	1,000	1,000	1,000	0,997

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo 7. Análisis de datos de la concentración eficiente antioxidante de los rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.

Estadísticas de grupo					
	FACTOR_CE50	N	Media	Desv. Desviación	Error estándar de la media
CE50_DPPH	Rizoma	3	538,9142	7,97232	4,60282
	Hoja	3	435,4587	5,32680	3,07543

Prueba de muestras independientes									
	Prueba de Levene de igualdad de varianzas			Prueba t para la igualdad de medias					
	F	p-valor	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	0,248	0,645	18,69	4	4,8 x 10⁻⁵	103,46	5,54	88,09	118,83
No se asumen varianzas iguales			18,69	3,49	1,3 x 10⁻⁴	103,46	5,54	87,16	119,75

Anexo 8. Análisis de datos del factor de fotoprotección solar de rizomas y hojas de *Niphidium crassifolium* L.

Estadísticos				
	OMXCM	Hojas_20	Hojas_100	Hojas_200
N	3	3	3	3
Asimetría	-0,438	1,508	1,610	-0,908
Error estándar de asimetría	1,225	1,225	1,225	1,225
Coefficiente de asimetría	-0,358	1,231	1,314	-0,741

Nota: Se considera que los datos provienen de una distribución normal si el coeficiente de asimetría está en el rango de -2 a 2.

	OMXCM	Rizoma_20	Rizoma_100	Rizoma_200
N	3	3	3	3
Asimetría	-0,438	1,458	0,091	-1,626
Error estándar de asimetría	1,225	1,225	1,225	1,225
Coefficiente de asimetría	-0,358	1,190	0,074	-1,327

Nota: Se considera que los datos provienen de una distribución normal si el coeficiente de asimetría está en el rango de -2 a 2.

Descriptivos								
FPS								
	N	Media	Desv. Desviación	Error estándar de la media	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Hojas 20 ug/mL	3	0,9113	0,00586	0,00338	0,8968	0,9259	0,91	0,92
Hojas 100 ug/mL	3	4,8452	0,00597	0,00344	4,8303	4,8600	4,84	4,85
Hojas 200 ug/mL	3	9,5456	0,00615	0,00355	9,5303	9,5609	9,54	9,55
Rizoma 20 ug/mL	3	0,4852	0,00529	0,00306	0,4721	0,4983	0,48	0,49
Rizoma 100 ug/mL	3	2,8460	0,00495	0,00286	2,8337	2,8583	2,84	2,85
Rizoma 200 ug/mL	3	5,8164	0,00599	0,00346	5,8015	5,8312	5,81	5,82
OMXCM 20 ug/mL	3	30,6197	0,01696	0,00979	30,5776	30,6619	30,60	30,64
Total	21	7,8671	9,96437	2,17440	3,3313	12,4028	0,48	30,64

Prueba de homogeneidad de varianzas					
Estadístico de Levene					
		gl1	gl2	p-valor	
FPS	Se basa en la media	1,590	6	14	0,222
	Se basa en la mediana	0,811	6	14	0,578

Nota: gl son los grados de libertad. Si p-valor es mayor a 0,05 se acepta de hipótesis nula (las varianzas son homogéneas).

FPS								
HSD Tukey ^a								
Subconjunto para alfa = 0.05								
Factor	N	1	2	3	4	5	6	7
Rizoma 20 ug/mL	3	0,4852						
Hojas 20 ug/mL	3		0,9113					
Rizoma 100 ug/mL	3			2,8460				
Hojas 100 ug/mL	3				4,8452			
Rizoma 200 ug/mL	3					5,8164		
Hojas 200 ug/mL	3						9,5456	
OMXCM 20 ug/mL	3							30,6197
p-valor		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo 9. Matriz de consistencia

Título	Problema de investigación	Objetivos	Hipótesis	Variables	Métodos
Contenido de polifenoles, potencial antioxidante y fotoprotección solar <i>in vitro</i> de hojas y rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	¿Cuál es el contenido de polifenoles de las hojas y rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. y qué nivel de actividad antioxidante y de fotoprotección solar <i>in vitro</i> presentan?	Objetivo general: Determinar el contenido de polifenoles, el potencial antioxidante y de fotoprotección solar <i>in vitro</i> de las hojas y rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. Objetivos específicos: • Cuantificar el contenido de fenoles totales y flavonoides en las hojas y rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. • Evaluar la actividad antioxidante <i>in vitro</i> de las hojas y rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. • Evaluar el efecto de fotoprotección solar <i>in vitro</i> de las hojas y rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	Hipótesis nula Las soluciones de los extractos de rizomas y de hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. no disminuyen significativamente la concentración de una solución radical DPPH y ABTS•+. Hipótesis alternativa Las soluciones de los extractos de rizomas y de hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. disminuyen significativamente la concentración de una solución radical DPPH y ABTS•+.	Variable independiente: El contenido de polifenoles de las hojas y rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. Variables dependientes: El nivel de actividad antioxidante y de fotoprotección solar <i>in vitro</i> que presentan las hojas y rizomas de <i>Niphidium crassifolium</i> L.	Alcance de investigación Descriptivo, explicativo. Diseño de investigación Experimental, no experimental. Población Rizomas y hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. recolectadas de la zona Oscohuilca, distrito de Quinua de la provincia de Huamanga en la región de Ayacucho, durante el mes de junio. Muestra 100 gramos de los rizomas y 100 gramos de hojas de <i>Niphidium crassifolium</i> L. Procedimientos • Método de Folin-Ciocalteu • Método colorimétrico de tricloruro de aluminio • Método ABTS•+ • Método DPPH• • Fotoprotección solar <i>in vitro</i> Análisis de datos Los resultados se les realizará un análisis de varianza (ANOVA) y prueba t Student y serán considerados estadísticamente.

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N°1407-2024-UNSCH-FCSA-D

BACHILLER: Candhy Hotharu MIRANDA MACHACA

En la ciudad de Ayacucho, siendo las once y quince de la mañana del día trece del mes de diciembre del año dos mil veinticuatro, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: **Contenido de polifenoles, potencial antioxidante y fotoprotección solar in vitro de hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.** presentado por la bachiller Candhy Hotharu MIRANDA MACHACA para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. El jurado evaluador está conformado por:

Presidente : Prof. Edgar Cárdenas Landeo (Delegado por el Decano)

Miembros : Prof. Kirianova Godoy Bautista

: Prof. Tania Mendoza Almeida

4to jurado : Prof. Edith E. Conislla Cáceres

Asesor : Prof. Marco R. Aronés Jara

Secretaria Docente : Prof. Cinthia Gavilán Zamora

Con el quorum de reglamento se dio inicio la sustentación de tesis, como acto inicial el presidente de la comisión pide a la secretaria docente dar lectura a la RESOLUCIÓN DECANAL N° 1407-2024-UNSCH-FCSA-D, de fecha 12 de diciembre del presente año, también manifiesta que los documentos presentados por la recurrente no tienen ninguna observación, dando algunas indicaciones a la sustentante.

Seguidamente se da inicio a la exposición la Bachiller: **Candhy Hotharu MIRANDA MACHACA**, 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.

RESULTADO DE LA EVALUACIÓN FINAL

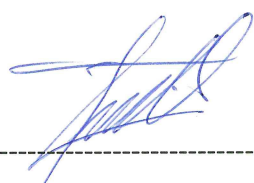
Jurado Calificador	Texto	Exposición	Rta preguntas	Prom
Prof. Kirianova Godoy Bautista	18	18	18	18
Prof. Tania Mendoza Almeida	17	17	15	16
Prof. Edith E. Conislla Cáceres	18	18	18	18
Promedio final:				17

De la evaluación final, se desprende el promedio final de diecisiete (17) por lo que firman al pie del documento en señal de conformidad, siendo las 12:25 pm se da por culminado el acto de sustentación de tesis.



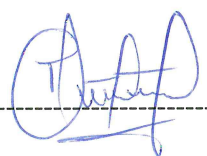
Prof. Edgar Cárdenas Landeo

Presidente



Prof. Kirianova Godoy Bautista

(Miembro)



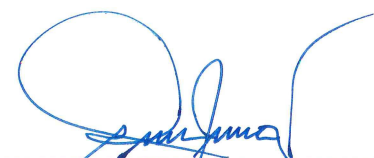
Prof. Tania Mendoza Almeida

(Miembro)



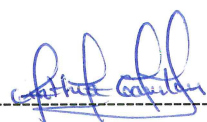
Prof. Edith E. Conislla Cáceres

(4to Jurado)



Prof. Marco R. Aronés Jara

(Asesor)



Prof. Cinthia Gavilán Zamora

(Secretaria Docente)



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:
TESIS DE PREGRADO

(C°80-2024-EPFB-UNSCH)

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

Contenido de polifenoles, potencial antioxidante y fotoprotección solar *in vitro* de hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

Para optar el título profesional de: QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR: Bach. Candhy Hotharu MIRANDA MACHACA

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **25% 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, 11 de diciembre del 2024



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

Mg. Maricela López Sierralta
DIRECTORA
Docente. Instructor
Segunda instancia

cc.
Archivo.

Contenido de polifenoles, potencial antioxidante y fotoprotección solar in vitro de hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

por Candhy Hotharu Miranda Machaca

Fecha de entrega: 11-dic-2024 08:03a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2549008186

Nombre del archivo: Tesis_de_Candhy_Hotharu_MIRANDA_MACHACA.pdf (682.77K)

Total de palabras: 13227

Total de caracteres: 66426

Contenido de polifenoles, potencial antioxidante y fotoprotección solar in vitro de hojas y rizomas de *Niphidium crassifolium* L.

INFORME DE ORIGINALIDAD

25%

INDICE DE SIMILITUD

23%

FUENTES DE INTERNET

8%

PUBLICACIONES

18%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	14%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unsch.edu.pe	4%
	Fuente de Internet	
3	diposit.ub.edu	1%
	Fuente de Internet	
4	dcmq.com.mx	1%
	Fuente de Internet	
5	apirepositorio.unh.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
6	dspace.ups.edu.ec	1%
	Fuente de Internet	
7	dspace.unitru.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	
8	recercat.cat	<1%
	Fuente de Internet	

9	repositorio.unc.edu.pe	Fuente de Internet	<1 %
10	es.scribd.com	Fuente de Internet	<1 %
11	Submitted to Universidad Nacional de Trujillo	Trabajo del estudiante	<1 %
12	repositorio.ucv.edu.pe	Fuente de Internet	<1 %
13	Submitted to Infile	Trabajo del estudiante	<1 %
14	hdl.handle.net	Fuente de Internet	<1 %
15	repositorio.unica.edu.pe	Fuente de Internet	<1 %
16	docplayer.es	Fuente de Internet	<1 %
17	Juan P Rojas, Sergio G Ronceros, Olga Palacios. "Evaluación in vitro de la actividad antileishmaniásica del extracto metanólico de siete plantas medicinales", Ciencia e Investigación, 2012	Publicación	<1 %
18	dspace.esPOCH.edu.ec	Fuente de Internet	<1 %

tesis.unap.edu.pe

19

Fuente de Internet

<1 %

20

www.corantioquia.gov.co

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo