



Universidad Nacional  
**SAN LUIS GONZAGA**



## **Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional**

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de Informe final de tesis es:

**Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”**

Presentado por:

**FLORES HERNANDEZ, MARYCIELO EMY**

De la Facultad de FARMACIA Y BIOQUÍMICA. El resultado obtenido es 5% por el cual se otorga el calificativo de:

**APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.**

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 21 de Agosto de 2024

.....  
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE  
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

“UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

AUTOR

Bach. FLORES HERNÁNDEZ, MARYCIELO EMY

Ica, Perú

2024

## **DEDICATORIA**

A Dios que me ha guiado y  
acompañado en cada paso que he dado en mi carrera.  
A mis padres los cuales me han apoyado a lo largo de toda mi vida.  
A mi hermana que me alentó e inspiró a estudiar  
y seguir esta hermosa carrera.  
A mis hermanos por su ánimo constante.  
A mis sobrinos a quienes quiero motivar a lograr sus metas  
y luchar por sus sueños.  
A ACIF, mi querida asociación donde descubrí  
la pasión por mi profesión.

## AGRADECIMIENTOS

**A mi querido asesor, Dr. Jorge García Ceccarelli**, quien apoyo a mi grupo en la realización de un proyecto de investigación y me sigue apoyando en este lindo proyecto. Más allá de las aulas, me enseñó que la paciencia, ser constante y la comunicación son la base de grandes proyectos.

**A mi estimado Dr. Felipe Surco**, con quien dentro de las aulas me enseñó diversos valores profesionales como la puntualidad, responsabilidad y organización. Cualidades importantes en profesionales de nuestra carrera. Además, su apoyo fue de vital importancia en la realización de este proyecto de investigación.

**Al semillero de investigación ACIF** (Asociación Científica de Investigación Farmacéutica), donde a través de las experiencias compartidas de nuestros compañeros egresados, pude encontrar la inspiración y guía en este gran mundo laboral farmacéutico. Agradezco las grandes amistades que pude conocer a través de la elaboración de proyectos de investigación, que me aportó mucho como persona y profesional.

## INDICE

<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>II</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>III</b>
<b>INDICE</b> .....	<b>IV</b>
<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	<b>VI</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>VII</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>X</b>
<b>I. INTRODUCCION</b> .....	<b>11</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática .....	12
1.2. Formulación del problema.....	13
1.3. Justificación e importancia .....	13
1.4. Objetivos de la investigación .....	14
1.5. Hipótesis y variables.....	14
1.5.1. Hipótesis .....	14
1.5.2. Variables .....	15
1.6. Marco Teórico .....	15
1.6.1. Antecedentes .....	15
1.6.2. Descripción.....	16
1.6.3. Clasificación botánica .....	17
1.6.4. Hábitat .....	18
1.6.5. Usos Tradicionales .....	19
1.6.6. Actividad Antioxidante .....	19
1.6.7. Estrés Oxidativo .....	20
1.6.8. Tamizaje fitoquímico .....	21
1.6.9. Marco Conceptual .....	21
<b>II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA</b> .....	<b>24</b>
2.1. Tipo, nivel y diseño de la investigación .....	24
2.1.1. Tipo de Investigación.....	24
2.1.2. Nivel de Investigación.....	24
2.1.3. Diseño de Investigación .....	25
2.2. Materiales de trabajo .....	25
2.2.1. Materiales de laboratorio.....	25
2.2.2. Material biológico .....	26
2.2.3. Equipos.....	26
2.2.4. Reactivos .....	26

2.2.5. Adicionales .....	27
2.3. Población y muestra.....	27
2.4. Métodos, técnicas y procedimientos de recolección de datos .....	27
2.4.1. Métodos y técnicas .....	27
2.4.1.1. Recolección del material vegetal.....	27
2.4.1.2. Tratamiento de la muestra .....	28
2.4.1.3. Tamizaje fitoquímico .....	29
2.4.1.4. Procedimiento de Caracterización Físicoquímicas.....	34
2.4.1.5. Métodos Para Determinar la Actividad Antioxidante .....	35
2.4.2. Lugar de experimentación .....	37
2.4.3. Técnicas de procesamiento de la información .....	37
2.4.4. Análisis Estadístico .....	38
<b>III. RESULTADOS .....</b>	<b>39</b>
3.1. Resultados del Tamizaje fitoquímico.....	39
3.2. Resultados de la Caracterización Físicoquímica .....	40
3.3. Resultados del Método Antioxidante FRAP.....	42
3.4. Resultados del Método Antioxidante ABTS .....	44
3.5. Resultados del Método Antioxidante DPPH .....	46
<b>IV. DISCUSIÓN .....</b>	<b>47</b>
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>50</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>51</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>52</b>
<b>VIII. ANEXOS .....</b>	<b>55</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Resultado del tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” .....	39
<b>Tabla 2.</b> Resultado de la caracterización fisicoquímica del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” .....	41
<b>Tabla 3.</b> Valores de absorbancia para la curva de calibración de trolox para el método de FRAP...42	
<b>Tabla 4.</b> Actividad antioxidante por el método FRAP del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” .....	43
<b>Tabla 5.</b> Valores de absorbancia para la curva de calibración de trolox para el método de ABTS...44	
<b>Tabla 6.</b> Actividad antioxidante por el método ABTS del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” y su TEAC correspondiente .....	45
<b>Tabla 7.</b> Valores de absorbancia y porcentaje de inhibición del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” .....	46

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Muestra vegetal recolectada.....	17
<b>Figura 2.</b> Muestra vegetal en su hábitat.....	18
<b>Figura 3.</b> Curva de calibración de trolox por el método FRAP .....	42
<b>Figura 4.</b> Curva de correlación de concentración de extracto vs capacidad antioxidante equivalente al trolox.....	43
<b>Figura 5.</b> Curva de calibración de trolox por el método ABTS.....	44
<b>Figura 6.</b> Curva de correlación de concentración de extracto vs capacidad antioxidante equivalente al trolox.....	45
<b>Figura 7.</b> Curva de correlación de la concentración del extracto vs porcentaje de inhibición del radical DPPH.....	46
<b>Figura 8.</b> Clasificación botánica por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (N° 039-USM-MHN-2023). .....	56
<b>Figura 9.</b> Secado de la muestra vegetal <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán”. .....	57
<b>Figura 10.</b> Filtrado del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán”.....	57
<b>Figura 11.</b> Secado del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán” .....	58
<b>Figura 12.</b> Obtención del extracto seco <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán” .....	59
<b>Figura 13.</b> Fraccionamiento del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán” .....	59
<b>Figura 14.</b> Pesado del extracto seco de las partes aéreas <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán” .....	60
<b>Figura 15.</b> Determinación de cenizas del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán” .....	60
<b>Figura 16.</b> Determinación de sólidos totales del extracto etanólico de las partes <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán”.....	61

<b>Figura 17.</b> Reacción de identificación de flavonoides en el extracto etanólico de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán”.....	61
<b>Figura 18.</b> Reacción de identificación de alcaloides en el extracto etanólico de las partes aéreas <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán” .....	62
<b>Figura 19.</b> Reacción de identificación de taninos en el extracto etanólico de las partes aéreas <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán” .....	62
<b>Figura 20.</b> Reacción de identificación de aminoácidos en el extracto etanólico de partes aéreas <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán” .....	63
<b>Figura 21.</b> Reacción de identificación de saponinas en el extracto etanólico de las partes aéreas <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán” .....	63

## RESUMEN

Alrededor del mundo parte de la población utiliza plantas medicinales como método alternativo frente enfermedades crónico-degenerativas. En el Perú, la especie vegetal *Heliotropium Curassavicum* “Hierba del alacrán”, era utilizada para tratar el cáncer en una región del país, sin tener suficientes estudios que confirmen la actividad terapéutica atribuida. **El objetivo** de la presente investigación es evaluar el contenido de los compuestos fitoquímicos y la capacidad antioxidante presente en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”. **Los materiales y métodos** utilizados fueron el extracto seco de la especie vegetal, obtenida por maceración con etanol al 96°. La actividad antioxidante se analizó por 3 métodos, poder antioxidante de reducción férrica (FRAP), la inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH) y la actividad antioxidante por la reacción del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS+). **Obteniendo como resultado** mediante el tamizaje fitoquímico la presencia de los metabolitos secundarios tales como: grupos aminos libres, flavonoides, triptenoides y/o esteroides, taninos, alcaloides, leucoantocianidinas, catequinas y saponinas. Por último, se obtuvo una capacidad antioxidante equivalente al Trolox (mM) de 0,080 por mg de extracto por el método FRAP, en el caso del método ABTS+ el valor equivalente a 1mg de extracto fue 0,128 mM de Trolox y se obtuvo una concentración inhibitoria de media máxima (IC<sub>50</sub>) de 4,18 mg por el método DPPH. **Ante ello podemos concluir** que presenta metabolitos secundarios relacionados a la actividad antioxidante como: flavonoides, triptenoides y/o esteroides, taninos, alcaloides, leucoantocianidinas, catequinas y presenta una actividad antioxidante moderada.

**Palabras clave:** *Heliotropium Curassavicum*, actividad antioxidante, tamizaje fitoquímico.

## ABSTRACT

Around the world, part of the population uses medicinal plants as an alternative method against chronic degenerative diseases. In Peru, the plant species *Heliotropium Curassavicum* "Seaside heliotrope " was used to treat cancer in one region of the country, without sufficient studies to confirm the attributed therapeutic activity. **The objective** of the present research is to evaluate the content of phytochemical compounds and the antioxidant capacity present in the ethanolic extract of the aerial parts of *Heliotropium Curassavicum* "Seaside heliotrope". **The materials and methods** used were the dry extract of the plant species, obtained by maceration with 96° ethanol. The antioxidant activity was analyzed by 3 methods, ferric reducing antioxidant power (FRAP), the inhibition against the free radical 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and the antioxidant activity by the reaction of the 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radical (ABTS+). **As a result**, the presence of secondary metabolites such as free amino groups, flavonoids, triptenoids and/or steroids, tannins, alkaloids, leucoanthocyanidins, catechins and saponins was obtained by phytochemical screening. Finally, an antioxidant capacity equivalent to Trolox (mM) of 0.080 per mg of extract was obtained by the FRAP method, in the case of the ABTS+ method the value equivalent to 1 mg of extract was 0.128 mM of Trolox and a maximum mean inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of 4.18 mg was obtained by the DPPH method. **In view of this we can conclude** that it presents secondary metabolites related to antioxidant activity such as: flavonoids, triptenoids and/or steroids, tannins, alkaloids, leucoanthocyanidins, catechins and presents a moderate antioxidant activity.

**Key words:** *Heliotropium Curassavicum*, antioxidant activity, phytochemical screening.

## I. INTRODUCCION

Alrededor del mundo, se encuentra una vasta variedad de plantas, de las cuales la mayoría poseen propiedades medicinales. En el pasado, sanadores y curanderos han utilizado diversas plantas con este tipo de propiedades para tratamientos en múltiples enfermedades que afectaban a la población. En el presente, el comercio de las plantas medicinales prevalece y se mantiene relevante, debido a que en algunas comunidades continua la creencia de que los medicamentos sintéticos pueden llegar a ocasionar dependencia o daño, aunque aproximadamente el 40-50% de los medicamentos tienen su origen en recursos naturales. (1).

Las plantas con propiedades antioxidantes contienen compuestos químicos, como polifenoles, flavonoides, carotenoides y vitamina C, los cuales ayudan a neutralizar los radicales libres en el cuerpo. Los radicales libres son moléculas inestables que pueden dañar las células y contribuir al envejecimiento y al desarrollo de enfermedades crónicas como el cáncer y las enfermedades cardíacas. Las plantas con la particularidad de ser antioxidantes protegen al cuerpo contra el estrés oxidativo y reducen el riesgo de sufrir enfermedades relacionadas con la oxidación celular. Además de su capacidad para combatir el daño celular, ha demostrado que las plantas antioxidantes brindan beneficios adicionales para la salud, tales como la reducción de la inflamación, soporte al sistema inmunológico y mejora de la salud cardiovascular. Incorporar una variedad de estas plantas en la dieta puede ser una forma efectiva de promover la salud y el bienestar general.

Los seres humanos necesitamos oxígeno ( $O_2$ ) para poder producir energía. Por el contrario, el exceso de  $O_2$  puede ser nocivo para las células por la formación de especies reactivas durante su oxidación. Para contrarrestar este problema, nuestro organismo actúa mediante un mecanismo llamado sistema antioxidante (AOX) el cual mantiene en equilibrio tanto las reacciones de óxido reducción como la sobrevivencia celular (2). En la actualidad muchas personas buscan consumir productos antioxidantes, debido a que el estrés oxidativo, se asocia a la patogénesis de enfermedades, tales como: artritis, arterioesclerosis, demencia, cáncer; por lo que, en la actualidad el uso de antioxidantes es estudiado de forma intensa, y especialmente, para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y accidentes cerebrovasculares (3).

El uso de las plantas medicinales hoy en día continúa siendo una alternativa en algunas terapias y tiene un alto uso popular, precisamente esta especie se emplea en medicina popular principalmente las partes aéreas como hipocolesterolémico, para el tratamiento de arterioesclerosis, reumatismo, gota, neuralgias y para el tratamiento del ácido úrico; también se reporta uso en baños de florecimientos (4), muchas enfermedades o dolencias para las que se emplea tienen relación con la generación de radicales libres, siendo ese uno de los motivos por el cual se realiza la presente investigación “Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

### **1.1. Descripción de la realidad problemática**

En Perú una gran parte de la población continúa utilizando como un método alternativo el uso de plantas medicinales, contra diferentes enfermedades crónico-degenerativas. Lamentablemente, no todas las plantas utilizadas tienen suficientes investigaciones como para poder determinar o confirmar el uso terapéutico que se le atribuye según el comercio local, por lo que se busca averiguar si esas atribuciones son reales o no; adicionando a esto que en múltiples ocasiones las personas consumen una planta sin saber si la dosis en que la están ingiriendo sea la adecuada, lo cual en algunos casos podría llevar u ocasionar una intoxicación. Una de ellas es el caso de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

Quizás algunos de los factores preponderantes para el consumo de plantas medicinales sea el aspecto económico y la demora en la atención en los establecimientos de salud; lo cual trae como consecuencia que se sigan utilizando técnicas ancestrales las cuales han sido transmitidas a través de generaciones, las cuales quizás han sido útiles pero que carecen de un fundamento o base científica. En muchos lugares de nuestro país nuestros conciudadanos solo utilizan para palear o combatir diversas enfermedades especies vegetales que ellos cultivan o que crecen de forma silvestre las mismas que son recolectadas principalmente por las personas de mayor edad de la comunidad las cuales transmiten las bondades de estas y la forma de uso; constituyendo esto el eslabón principal de la transmisión de conocimiento en el uso de las plantas medicinales.

Por último, es importante señalar que en los recientes años la búsqueda de especies vegetales por parte de la industria farmacéutica se ha incrementado notablemente, debido a que un importante sector de la población busca consumir productos de este tipo con la finalidad de combatir diferentes dolencias o enfermedades; resaltando la difusión y comercialización de productos con propiedades o características antioxidantes.

## 1.2. Formulación del problema

### Problema General

- ¿Qué componentes fitoquímicos están presentes y cuál es la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”?

### Problemas Específicos

- ¿Tendrá el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” actividad antioxidante?
- ¿Cuál de los componentes fitoquímicos podrían ser los responsables de la actividad antioxidante en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”?
- ¿Cuál de los métodos presenta mayor capacidad antioxidante en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”?

## 1.3. Justificación e importancia

Según nuestra investigación realizada en diferentes bases de datos con relación a estudios fitoquímicos, actividades farmacológicas y estudios de las propiedades atribuidas por la etnobotánica hacia esta especie vegetal, encontramos que en nuestro país se han realizado muy pocas investigaciones, por el contrario, existen algunos estudios realizados en otros países en los cuales se reportan que se obtuvieron buenos resultados e incluso en algunos de ellos se sugiere que se debe profundizar las investigaciones de esta especie.

En nuestra patria esta planta es muy poco utilizada ya que es considerada como una “mala hierba”, quizás esta denominación o atribución errónea que se le asigna sea por la forma de crecimiento, por su ubicación o principalmente por desconocimiento de las personas, pero también podría darse la denominación de “mala hierba” por lo que esta especie vegetal se encuentra o reproduce de preferencia en suelos ligeros o altamente salinos, considerándose en otras latitudes como una especie invasiva y que despertó el interés por crecer en condiciones agrestes y usados para el tratamiento de ciertas dolencias degenerativas como se mencionó anteriormente (5); también en algunas zonas del territorio nacional, como en la ciudad de Trujillo, en el comercio popular relacionado al expendio de plantas curativas o medicinales la recomendaban y utilizaban en tratamientos para combatir el cáncer (4).

En otros países del orbe como Pakistán se han efectuado investigaciones en las cuales, se revela la existencia de metabolitos secundarios y las posibles propiedades terapéuticas en las cuales se incluída la actividad antioxidante en la especie de *Heliotropium Curassavicum*. Es importante considerar que estas propiedades pueden cambiar en el tiempo y espacio debido a los diferentes factores climatológicos, agronómicos, y ecológicos e incluso por el estrés al cual puede estar sometida la especie vegetal; por lo cual consideramos que se justifica y es relevante la realización del presente estudio, para poder contribuir desde una base científica buscando que verificar las propiedades atribuidas a esta especie vegetal.

#### **1.4. Objetivos de la investigación**

##### **Objetivo General**

- Evaluar el contenido de los compuestos fitoquímicos y la capacidad antioxidante que están presentes en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

##### **Objetivos Específicos**

- Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP.
- Determinar los posibles componentes fitoquímicos responsables de la actividad antioxidante en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.
- Identificar el método antioxidante que presenta mayor actividad en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

#### **1.5. Hipótesis y variables**

##### **1.5.1. Hipótesis**

###### **Hipótesis General**

- El extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” presenta diversos compuestos fitoquímicos y una apreciable capacidad antioxidante.

### Hipótesis Específicas

- El extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” presenta actividad antioxidante en los 3 métodos analizados.
- Los componentes fitoquímicos responsables del efecto antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” serían los flavonoides.
- El método ABTS presentará mayor actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

### 1.5.2. Variables

OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES		
V. Independiente		
Variable	Indicador	Índice
Extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”	Metabolitos secundarios.	Reacciones de coloración y precipitación.
	Parámetros fisicoquímicos.	Sólidos totales, sólidos solubles, pH y cenizas.
V. Dependiente		
Variable	Indicador	Índice
Actividad Antioxidante	Método DPPH	IC <sub>50</sub>
	Método FRAP	TEAC
	Método ABTS	TEAC

### 1.6. Marco Teórico

#### 1.6.1. Antecedentes

Sobre la especie *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” se han encontrado estudios realizados sobre los fito-constituyentes que se encuentran presentes en ella y la posible actividad antioxidante que presentaría esta especie vegetal. Los estudios realizados son los siguientes:

- Lissi et al. (6) en su investigación: “*Total antioxidant potential of resinous exudates from Heliotropium species and comparison of the ABTS and DPPH methods*” (2009), evidenciaron que los exudados resinosos de las especies estudiadas de *Heliotropium* presentan una alta concentración de actividad antioxidante mediante el método de ABTS y DPPH.

- Wasiullah et al. (7) en su trabajo: “*Phytochemical Investigation and Pharmacological Activities of Heliotropium Curassavicum Linn.*” (2019), determinaron que la fracción dicloro-metánica de *Heliotropium Curassavicum* presenta una buena actividad antioxidante tanto en el ensayo de ABTS como DPPH.
- Suthar et al. (8) en su investigación: “*Phytochemical Screening of Halophytic Plant Heliotropium curassavicum L.*” (2021) elaboraron un estudio fitoquímico cualitativo de la especie vegetal *Heliotropium curassavicum*, asimismo, este ensayo se realizará con extractos con diferentes solventes en los cuales encontraron presencia de alcaloides, fenoles, taninos, esteroides y proteínas los cuales tienen mayor presencia con los solventes de acetona y metanol.
- Abd-ElGawad et al. (1) en su investigación: “*Habitat Affects the Chemical Profile, Allelopathy and Antioxidant Properties of Essential Oils and Phenolic Enriched Extracts of the Invasive Plant Heliotropium Curassavicum*” (2019) demostraron la presencia de 56 compuestos químicos, de los cuales solo 14 de ellos se encontraron en cultivos cercanos al mar y por otro lado el total de 56 compuestos se encontraron en los cultivos alejados del mar, posiblemente debido a una variación en la salinidad que causa mayor estrés en los cultivos costeros. Además, ambos aceites esenciales mostraron actividad alelopática y antioxidante, siendo el aceite extraído de las zonas costeras con mayor actividad frente al aceite esencial extraído de los cultivos alejados del mar.

### 1.6.2. Descripción

*Heliotropium Curassavicum*, es una especie vegetal que crece en suelos salobres, como en la arena de playa y pisos alcalinos. Es una planta perenne herbácea, el cual toma la forma de una enredadera en el suelo o forma de arbusto erecto el cual alcanza un tamaño de 0,5 m de altura. El tallo y follaje son carnosos, además presenta hojas gruesas y ovaladas. Posee inflorescencias que se encrespan en forma de una doble fila de pequeñas flores con forma de campana, además cada flor es de color blanco con cinco lóbulos redondeados y una garganta de color púrpura o amarillo. El fruto es una núcula suave (9).

### 1.6.3. Clasificación botánica

La muestra vegetal después de haber sido recolectada se seleccionó una porción de esta, la cual se trasladó para su identificación al museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; donde se nos emitió una constancia de la clasificación efectuada (N° 039-USM-MHN-2023) según el sistema de clasificación de Cronquist (1988), teniendo la siguiente posición taxonómica:

- Reino: Plantae
- Orden: Boraginales
- Familia: Boraginaceae
- Género: *Heliotropium*
- Especie: *Heliotropium curassavicum* L.
- Nombre Vulgar: Hierba del Alacrán



**Figura 1.** Muestra vegetal recolectada

#### 1.6.4. Hábitat

La especie vegetal en estudio es originaria de América, de manera internacional se han encontrado estudios que aseguran que se ha expandido a otros continentes como África, Europa y Asia. Es importante resaltar que las condiciones ambientales son únicas en cada lugar o país en donde crece y se desarrolla esta especie, es probable que un cambio en las condiciones ambientales puede provocar variaciones significativas en los ingredientes o componentes bioactivos de las plantas los cuales se consideran como un mecanismo adaptativo, debido a que los compuestos bioactivos permiten a las plantas invadir y colonizar nuevos espacios, territorios o hábitats (8).

En el Perú esta especie vegetal la podemos encontrar en los departamentos de Arequipa, Ica, La Libertad, Lambayeque, Lima, Piura y Tacna. Se reporta que esta planta se desarrolla principalmente en zonas costeras, su hábitat está circunscrito a una elevación de 0-500, 500-1000 m.s.n.m. (10).



**Figura 2.** Muestra vegetal en su hábitat.

### 1.6.5. Usos Tradicionales

La medicina popular o ancestral reporta que la especie vegetal *Heliotropium curassavicum* se ha utilizado tradicionalmente para el tratamiento de úlceras, heridas, inflamaciones locales, cura de la gonorrea, erisipela, estreñimiento, edema, infecciones bacterianas y diabetes (8). Pero quizás lo más importante de resaltar es que en un estudio realizado en la ciudad de Trujillo encontramos que sus hojas y tallos, los cuales son usados en forma de cocimiento era empleado para tratar el cáncer (4).

### 1.6.6. Actividad Antioxidante

Los antioxidantes pueden actuar a través de 2 vías principales para inactivar los radicales: reacciones de transferencia de átomo de hidrógeno (Hydrogen Atom Transfer, HAT) o de transferencia de un electrón (Single Electron Transfer, SET). Al final el resultado es el mismo, independientemente del mecanismo, pero la cinética y las reacciones colaterales difieren.

En las reacciones tipo HAT, (radical DPPH) se inactiva el radical por donación de un átomo de hidrógeno por parte del antioxidante. De esta forma el nuevo radical formado es mucho más estable que el inicial. Las reacciones HAT son determinadas por la entalpía de disociación del grupo donador de hidrógeno en la molécula antioxidante. Las reacciones HAT dependen del pH y del solvente, y normalmente son muy rápidas.

Por otro lado, en las reacciones SET (los ensayos de FRAP y ABTS) el antioxidante transfiere un electrón para reducir diferentes compuestos incluyendo, metales, carbonilos y radicales. Los mecanismos SET y HAT ocurren generalmente al mismo tiempo, el pH y la estructura de los antioxidantes determinará cual es el predominante.

La reactividad relativa en el método SET se basa principalmente en la desprotonación y en el potencial de ionización del grupo funcional reactivo, por lo que las reacciones son dependientes del pH. En general, el potencial de ionización disminuye con el incremento del pH, reflejando el aumento de la capacidad donadora de electrones con desprotonación (11) (12).

### 1.6.7. Estrés Oxidativo

Un radical libre es un átomo o molécula que contiene electrones desapareados en el último orbital, haciendo que sean muy reactivos, debido a ello es que suelen reaccionar con múltiples biomoléculas produciendo su oxidación para alcanzar su estabilidad electroquímica. Debido a este concepto, las formas reducidas de  $O_2$  son llamadas ERO (Especies reactivas de oxígeno) y también está el Peróxido de hidrogeno  $H_2O_2$ . Las ERO son productos resultados del metabolismo celular, pero también se puede formar por fuentes exógenas tales como Rayos X, contaminación ambiental o humo de tabaco, además un exceso en la producción de las ERO es perjudicial en los organismos vivos (2).

La vida media de un radical libre es de microsegundos, sin embargo, el radical tiene la capacidad de reaccionar con lo que esté a su alrededor, lo cual provoca gran daño a membranas celulares, moléculas o tejidos. Cuando los radicales libres se acumulan por años o se producen en grandes cantidades, debido principalmente a contaminantes externos los cuales tienden a deteriorar la salud del organismo vivo (13).

Para contrarrestar los efectos nocivos de los radicales libres, los organismos aerobios tienen sistemas de defensa antioxidante, en los que están incluidos las moléculas, enzimas y sequestradores químicos los cuales previenen los daños del estrés oxidativo.

Las enzimas AOX conforman la vanguardia de defensa celular frente al daño oxidativo, las cuales eliminan tanto el  $O_2$  como el  $H_2O_2$ . Posteriormente, encontramos una segunda línea de defensa la cual se compone por moléculas no enzimáticas actuando en contra de los radicales libres. Los antioxidantes se agrupan según su naturaleza química y su modo de acción:

- Enzimas
- Antioxidantes preventivos
- Antioxidantes sequestradores de ERO
- Antioxidantes nutricionales (2)

El estrés oxidativo en los diversos estados patológicos que se presente puede alterar la funcionabilidad celular, de esa manera contribuye o retroalimenta el desarrollo de enfermedades tales como: enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurológicas, enfermedades autoinmunes, trastornos neurodegenerativos como envejecimiento, hipertensión, Parkinson, Alzheimer, síndrome de dificultad respiratoria aguda (13).

### 1.6.8. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico se basa en la identificación de los fito-constituyentes denominados metabolitos secundarios los cuales pueden estar presentes en extractos de material vegetal, los metabolitos se identifican mediante el uso de reacciones de precipitación, coloración, y análisis químicos bien descritos. Además, el tamizaje se puede realizar a diferentes extractos del mismo producto natural, debido a que tiene como fin identificar y comprobar la presencia de estos metabolitos, los cuales pueden variar de acuerdo con el solvente utilizado en su extracción (14).

### 1.6.9. Marco Conceptual

- **Especies Reactivas del Oxígeno (ERO):** son especies reactivas que son derivadas del oxígeno, las cuales son: el radical hidroxilo (OH), el anión superóxido ( $O_2^-$ ), el radical peróxido (ROO), el radical hidroperoxilo ( $HO_2$ ), el óxido nítrico (NO) y el oxígeno singlete ( $1O_2$ ). Además, existen otras especies reactivas derivadas del oxígeno y son oxidantes en ciertas condiciones, tales como: el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el ácido hipocloroso (HClO) y el ozono ( $O_3$ ) (15).
- **Enzimas:** son proteínas complejas que producen un cambio químico específico, el cual depende de la función de la enzima.
- **Polaridad:** es una propiedad presente en las moléculas que significa la separación de las cargas eléctricas presentes en la misma molécula. La polaridad está íntimamente relacionada con propiedades tales como la solubilidad, el punto de ebullición, punto de fusión, fuerzas intermoleculares, etc. Es por lo que, dependiendo de la polaridad del disolvente, éste atraerá diferentes compuestos en una misma materia vegetal.
- **Extracto etanólico:** se obtiene una maceración de aproximadamente 7 días de una especie vegetal seca con etanol (alcohol etílico 97°).
- **Antioxidante:** son sustancias naturales o fabricadas sintéticamente, las cuales pueden prevenir o retrasar algunos tipos de daños a las células. Estos se pueden encontrar en diversos alimentos, incluyendo frutas, verduras y plantas.

- **Taninos:** son moléculas complejas que se conforman de aproximadamente 12 a 16 grupos fenólicos. Además, es una sustancia astringente, que se puede encontrar en algunos tejidos vegetales, tal como la corteza de los árboles y hollejo de la uva; entre otros usos se emplea para curtir pieles.
- **Flavonoides:** son compuestos fenólicos diaril-propánicos que constituyen un amplio grupo de compuestos fenólicos los cuales provienen del metabolismo secundario en algunas plantas. Dentro de la amplia gama de efectos que se le atribuyen, se encuentra su efecto antioxidante y la capacidad que cuenta para inhibir diferentes procesos enzimáticos.
- **Aminoácidos:** son moléculas que combinadas las cuales forman las proteínas. Los aminoácidos y las proteínas son pilares vitales en la vida, debido a que cuando se descomponen o ingieren las proteínas, dan como resultado los aminoácidos.
- **Alcaloides:** son sustancias orgánicas nitrogenadas, de origen vegetal mayoritariamente. Presentan una estructura química compleja los cuales en diversas ocasiones ejecutan acciones farmacológicas en pequeñas dosis y cuentan con una marcada toxicidad por lo que su rango terapéutico es muy estrecho.
- **Saponinas:** son heterósidos muy presentes en el amplio reino vegetal. Su contacto con el agua produce una espuma persistente, siendo ésta su característica principalmente conocida.
- **Sólidos Totales:** es la materia que permanece como residuo posterior a una evaporación y secado de  $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$  por transcurso de 1 hora.
- **Sólidos Solubles:** la concentración de sólidos solubles se determinará mediante la utilización de un refractómetro. Se realiza una dilución del extracto al 10 % y se coloca una gota en el equipo.
- **Cenizas:** es un método en el cual toda la materia orgánica existente en un extracto se oxida a una temperatura que ronda entre los  $550 - 600^{\circ}\text{C}$  (mediante el uso de una mufla); el material inorgánico que no se sublima a esta temperatura es llamada ceniza.

- **pH:** es una medida que revela el valor de la acidez o la alcalinidad de las soluciones. Es definida como la concentración de iones de hidrógeno presentes en el agua. La escala del pH es logarítmica con valores de 0 a 14.
- **DPPH:** (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) propuesto por Blois en 1958, se basa en un método de captación de radicales libres muy utilizado para determinar la actividad antioxidante de un extracto. El método se basa en aceptar un electrón o átomo de hidrógeno por la molécula 1,1-difenil-2-picrilhidrazina, que en solución en metanol es de color violeta intenso.
- **FRAP:** su principio es basado en que los antioxidantes son sustancias que pueden reducir el ion férrico al estado ferroso; tal es así que el ion forma un complejo coloreado con el compuesto 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ). El método FRAP no mide la capacidad neutralizadora de los radicales libres presentes en la muestra, lo que evalúa es su capacidad reductora por la transferencia de electrones.
- **ABTS:** a través de este método se evalúa la actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC), el cual es basado en la reducción de la coloración verde/azul que se produce por la reacción del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS<sup>+</sup>) con el antioxidante presente en la muestra.

## II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

### 2.1. Tipo, nivel y diseño de la investigación

#### 2.1.1. Tipo de Investigación

##### Diseño Experimental

Presenta como base una compilación de esbozos de investigación que utilizan la ejecución y la verificación controlada para entender los sucesos causales. En general, una o más variables se manipulan con el objetivo de determinar su efecto sobre una variable dependiente. La parte experimental es donde el investigador opera u ordena una variable y controla/aleatoriamente el resto de las variables.

#### 2.1.2. Nivel de Investigación

##### Descriptivo- Explicativo

**Descriptivo:** Implica conocer la situación actual, la cultura y las actitudes resaltantes mediante una descripción detalla del proceso. Se trata de estudiar y conocer las características del problema elegido.

**Explicativo:** Debido a que se encarga de buscar el porqué de los sucesos, mediante el establecimiento de relaciones causa-efecto. En la presente investigación establecemos la posible relación entre la presencia del tipo de metabolitos secundarios hallados y la actividad antioxidante que presenta el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

El trabajo realizado permite encontrar el verdadero motivo de la investigación, estableciendo las relaciones de causa y efecto. Por tanto, para el extracto etanólico de las partes áreas de la planta en estudio se establece una probable relación entre la presencia de metabolitos secundarios seleccionados y la actividad antioxidante presente.

### **2.1.3. Diseño de Investigación**

El diseño de investigación es el cuali-cuantitativo y transversal, debido a que mediante el estudio realizado determinamos la presencia o ausencia de los metabolitos secundarios en un determinado extracto etanólico y cuantificamos un parámetro como es la capacidad antioxidante. Es una investigación transversal porque los datos reportados son en un determinado tiempo.

## **2.2. Materiales de trabajo**

### **2.2.1. Materiales de laboratorio**

- Vasos de precipitado
- Embudos
- Luna de reloj
- Balones
- Espátulas de metal
- Matraces Erlenmeyer
- Fiolas
- Probetas
- Tubos de ensayo
- Vasos de vidrio
- Pinzas metálicas
- Soporte universal
- Pipetas de 1mL, 5mL y 10mL
- Peras de bromo
- Propipetas
- Bagueta
- Micropipetas 100uL
- Micropipetas 1000uL

### **2.2.2. Material biológico**

- Partes aéreas de la especie vegetal *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

### **2.2.3. Equipos**

- Balanza analítica (BOECO)
- Evaporador rotatorio marca HEIDOLPH modelo LABOROTA 4000.
- Espectrofotómetro UV/Vis 2100 (UNICO 2100)
- Baño ultrasonido (UC-10)
- Estufa/incubadora Binder B-28
- Mufla

### **2.2.4. Reactivos**

- Metanol
- Diclorometano
- Agua destilada
- Alcohol 70°
- Etanol 96°
- Hidróxido de Amonio 25%
- Ácido clorhídrico
- Acetato de Sodio
- Tricloruro férrico
- Ácido acético glacial
- 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH). Sigma –Aldrich
- Reactivo 2,4,6, tripiridyl-s-triazina (TPTZ).
- Trolox Hoffmann – La Roche

### **2.2.5. Adicionales**

- Papel de filtro
- Papel de aluminio
- Guantes estériles
- Mascarilla
- Gafas protectoras
- Papel tisú
- Papel toalla
- Viales
- Micropipetas automáticas y tips para micropipetas

### **2.3. Población y muestra**

Muestra vegetal: Partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”

### **2.4. Métodos, técnicas y procedimientos de recolección de datos**

#### **2.4.1. Métodos y técnicas**

##### **2.4.1.1. Recolección del material vegetal**

La especie vegetal estudiada *Heliotropium Curassavicum*, fue recolectada por el autor en el Distrito, Provincia y Región Ica. La recolección de ésta se realizó en las primeras horas de la mañana con la finalidad que la temperatura solar no altere la composición de la especie, utilizamos una pala de jardín y bolsas de papel Kraft, una vez efectuada la recolección, con la finalidad de proteger la especie se realizó su traslado inmediato al laboratorio de Química General de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”.

Se selecciono una porción de la muestra de la especie vegetal la cual fue trasladada por el autor al Museo de Historia Natural de la UNMSM para que sea clasificada taxonómicamente.

#### 2.4.1.2. Tratamiento de la muestra

**Selección:** Luego que efectuamos la recolección, se procedió a realizar una selección de la muestra vegetal, de tal forma que todas las muestras que se encuentran en buen estado se colocaron en bolsas de papel Kraft para evitar procesos de descomposición.

**Limpieza:** Seguido al proceso descrito anteriormente se continua con la limpieza con la finalidad de poder eliminar todo residuo de cuerpos extraños, tierra, suciedad, grasa o muestras en mal estado; con el objetivo fundamental que estos no ocasionen posteriores interferencias o alteraciones.

**Secado:** Esta etapa del trabajo se realizó bajo sombra en el interior del laboratorio, esto con la finalidad que los componentes de la especie en estudio no sufran ninguna alteración, la especie vegetal se distribuyó sobre hojas de papel Kraft que fueron colocadas sobre las mesas de trabajo del laboratorio durante aproximadamente 15 días; dando movimiento periódico a la misma, con la finalidad de obtener un secado uniforme. Una vez transcurrido este periodo de tiempo, se procedió a comprobar que se ha secado la muestra mediante presión al tacto y esta se quiebra con facilidad, caso contrario debió extenderse el periodo de tiempo de secado.

**Molienda:** Seguidamente procedimos a fragmentar o triturar la muestra vegetal, esto se realizó mediante cortes haciendo uso de tijeras de podar, buscando que toda la muestra a utilizar tuviera un tamaño uniforme.

**Conservación:** Una vez que teníamos la muestra a estudiar totalmente fragmentada, esta se almacenó en bolsas de papel Kraft confeccionadas especialmente para este fin, la muestra se mantuvo en estas bolsas hasta que se continuo con las siguientes etapas del estudio.

### **2.4.1.3. Tamizaje fitoquímico (16)**

El screening fitoquímico, es la etapa inicial en la investigación fitoquímica de las especies vegetales, la cual nos permite precisar cualitativamente los grupos químicos primordiales que se encuentren presentes en una especie vegetal; lo que nos permitirá a partir de ello, orientar el fraccionamiento y extracción o aislamiento de los grupos de mayor interés. El tamizaje fitoquímico se constituye en la remoción de metabolitos con solventes de diferentes polaridades de acuerdo con la naturaleza y solubilidad de estos; para su posterior reconocimiento mediante la aplicación de reacciones de coloración y precipitación. El uso de reactivos o productos químicos brinda una evaluación rápida, la cual nos permite acceder a trabajos sensibles y reproducibles.

#### **2.4.1.3.1. Determinación de grupos funcionales**

##### **2.4.1.3.1.1. Obtención de Fracciones**

###### **Procedimiento**

Se tomaron 700 g de las partes aéreas secas, pulverizadas o fragmentadas de la especie vegetal *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”; luego procedimos a colocar la muestra en un frasco de vidrio con la finalidad de efectuar la maceración, el solvente utilizado fue el alcohol de 96°C y se almacenó durante un periodo de tiempo de 15 días, durante este periodo de tiempo efectuamos una agitación periódica, logrando de esta manera, optimizar la extracción de los metabolitos primarios y secundarios.

Posteriormente, se procedió a efectuar la filtración del extracto; seguidamente a este paso realizamos el trabajo en un evaporador rotatorio o también llamado rotavapor con la finalidad de obtener un extracto seco, el cual constituye la base fundamental para las etapas siguiente de nuestra investigación (extracto crudo). Este se disolvió con HCl al 1% (2 x 20 mL), y posteriormente se filtró con la finalidad de obtener dos partes:

a) **Insoluble:** Esta porción se procedió a lavar hasta un pH neutro utilizando H<sub>2</sub>O destilada, luego se disolvió con 5mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, seguidamente se procedió a secar con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, a continuación, se filtró, el filtrado obtenido se denominó **Fracción B.**

b) **Solución ácida:** la solución se filtró y se alcalinizó con NH<sub>3</sub>, se efectuó la extracción con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 25mL), obteniendo las 2 siguientes fases:

✓ **Fase Diclorometánica:** se lavó utilizando 10 mL de agua destilada, posteriormente esta porción diclorometánica se procedió a secar con sulfato de sodio anhidro y a continuación, se filtró; dando como resultado **la Fracción C.**

✓ **Fase Acuosa:** Utilizando 5g de sulfato de sodio anhidro se saturó la fase y luego se efectuó una extracción con diclorometano: etanol (3:2) (2 x 25mL). Aquí obtuvimos las siguientes dos porciones:

- **Fase Orgánica:** (Diclorometánica-etanólica). Se efectuó un lavado con una solución de sulfato de sodio anhidro (10 mL), hasta que se aglutinaron las fases acuosas. Posteriormente, se deshidrató la fase orgánica con 1g de sulfato de sodio anhidro. Se procedió a filtrar y dió como resultado **la Fracción D.**

- **Fase Acuosa:** Se adicionaron los remanentes acuosos obtenidos del lavado de la fase orgánica (porción previa), a esto le llamamos **Fracción E.** Sobre estas fracciones se determinaron diferentes metabolitos.

**Fracción F:** en un vaso precipitado se coloca 1 g de la droga seca y molida con 20 mL de agua, luego se agita con una bagueta. Durante 15 minutos debe hervir, transcurrido el tiempo se procede a filtrar en caliente utilizando el papel filtro, por último, se deja enfriar a temperatura ambiente dando como resultado la **Fracción F**.

Una vez separadas las diversas fracciones del extracto seco de la muestra vegetal, procedimos a realizar las reacciones de identificación mediante diversos ensayos de coloración o precipitación, esto con la finalidad de poder identificar los grupos funcionales y grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

#### 2.4.1.3.1.2. Detección de Taninos

- ✓ **Reacción de gelatina-Sal:** en seleccionan tres tubos de ensayo y se vierte en cada uno 0,5 mL de extracto etanólico obtenido de la **Fracción A** previamente disuelto en agua; al tubo 1 se le adiciona 1 mL de solución de Cloruro de Sodio al 5%, al tubo 2 se le añade 1 mL de la solución de gelatina al 1% y al tubo 3 se le adiciona 1 mL de solución de NaCl 5% y 1 mL de gelatina al 1% la cual es una mezcla de gelatina – sal; la precipitación con este último reactivo o con ambos para los tubos 1° y 2° son un indicador positivo de la presencia de taninos, si solo ocurre en uno podría ser un falso positivo.
- ✓ **Reacción de Cloruro Férrico:** en un tubo de ensayo se coloca 0,5 mL de la **Fracción A** en etanol y posteriormente, se agrega 1 gota de solución acuosa de Tricloruro Férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) al 1%. La reacción es positiva cuando aparecen colores azul-negro, verde o azul verdoso.

#### 2.4.1.3.1.3. Detección de Aminoácidos

- ✓ **Reacción de Ninhidrina:** En este caso se trabaja sobre tiras de papel de filtro, en estas tiras con ayuda de una pipeta capilar se agrega lo siguiente:
  - Una gota de la **Fracción A** más una gota de reactivo Ninhidrina al 2%.
  - Blanco: son unas gotas de la solución etanólica de Ninhidrina al 2%.

Luego, en primer lugar, se efectúa el secado a temperatura ambiente de las tiras de papel, posteriormente, estas tiras se colocaron en una plancha de calentamiento o calefactora a una temperatura de 110 - 120°C hasta que aparezca un color en la tira de papel conteniendo al blanco.

El resultado es la comparación entre la mancha presente en el blanco con la mancha obtenida en la muestra, la reacción es positiva si la mancha en el papel de la muestra es de un color azul violáceo.

#### 2.4.1.3.1.4. Detección de Flavonoides

- ✓ **Reacción de Shinoda:** en una placa excavada se vierte 3 gotas de la **Fracción A, Fracción D o Fracción E**, luego se agregan aproximadamente 5 limaduras de Magnesio y por último se adicionan 2 gotas de Ácido clorhídrico concentrado. La reacción es positiva cuando aparecen tonos de color rojo, anaranjado y violeta.

#### 2.4.1.3.1.5. Detección de Triterpenoides y/o Esteroides:

- ✓ **Reacción de Liebermann Burchard:** En una placa excavada se disuelve una reducida cantidad de la **Fracción B, Fracción C o Fracción D** en diclorometano, posteriormente, se agregan 5 gotas de anhídrido acético y por último se añaden 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La reacción es positiva si se revela el color verde, azul verdoso (vías rojo o azul).

#### 2.4.1.3.1.6. Detección de antraquinonas

- ✓ **Reacción de Bornträger:** en un tubo de ensayo se agrega una determinada cantidad de la **Fracción B**, luego se disuelve con diclorometano y se añaden 3 ml de NaOH 5%, posteriormente se tapa el tubo de ensayo y se agita suavemente. La reacción es positiva si la fase acuosa toma un color rojo.

#### 2.4.1.3.1.7. Detección de Alcaloides

Los restos de la **Fracción C o Fracción D**, se evapora a sequedad, luego se agrega 2 ml de HCl al 1% y se filtra. Al filtrado se realizan las siguientes reacciones de precipitación:

- ✓ **Dragendorff:** se agregan 4 gotas del reactivo; la reacción es positiva si presenta un precipitado anaranjado.
- ✓ **Mayer:** del reactivo se añaden 4 gotas; se considera reacción positiva si presenta un precipitado blanco cremoso.
- ✓ **Hager:** se añadieron 4 gotas del reactivo; la reacción es positiva si se forma un precipitado color marrón.

#### 2.4.1.3.1.8. Detección de Leucoantocianidinas y catequinas

- ✓ **Reacción de Rosenheim:** a 2 mL de la **Fracción D o Fracción E**, se agregan 0.1 mL de HCl concentrado, la mezcla se calienta durante 10 minutos a 100°C y se deja enfriar. Luego se añaden 2 L de agua y 0.4 mL de alcohol amílico, después agitar y observar el color en la fase amílica. La reacción es considerada positiva si se forma un color que va desde el rosado débil llegando hasta el carmesí oscuro.

#### 2.4.1.3.1.9. Detección de Saponinas

- ✓ **Prueba de Espuma:** En 2 tubos de ensayo se agregan 2.5 mL de la **Fracción F**; luego se procede a agitar los tubos de ensayo durante 1 minuto. Se deja en reposo por el periodo de 15 minutos; se debe observar la formación de espuma. Esta reacción se considera negativa cuando la altura de la espuma formada es de una altura inferior a 5 mm.

#### 2.4.1.4. Procedimiento de Caracterización Físicoquímicas (17)

##### 2.4.1.4.1. Sólidos totales: AOAC 925.03B

**Determinación:** Pesamos alrededor de 2 g de extracto seco en una placa Petri, previamente esta placa se seca a una temperatura de 130°C por 1 hora, seguidamente procedemos a enfriar está en un desecador; debemos efectuar el pesado cuando llegue a la temperatura ambiente.

Procedimos a colocar la placa destapada conteniendo la muestra, en la estufa para efectuar el secado a  $130 \pm 3^\circ\text{C}$  por espacio de 1 hora (tomando el tiempo desde cuando la estufa llega a la temperatura de 130°C), cubrimos la placa con la tapa dentro de la estufa concluido el tiempo, luego llevamos la placa al desecador; posteriormente pesamos la placa, cuando está llega a la temperatura ambiente. Reportando la pérdida de peso como humedad.

##### 2.4.1.4.2. Sólidos solubles: AOAC 932.12.

Mediante el método refractométrico, se determinaron los sólidos solubles presentes en el extracto,

Se determinó mediante el método refractométrico, para efectuar esta determinación primero se preparó una suspensión al 10% y luego se calibro el equipo se realizando la medición de forma directa.

##### 2.4.1.4.3. Cenizas: AOAC 923.03 Ash

**Determinación:** Previamente un crisol debe ser incinerado o calentado a temperatura de tratamiento ( $550^\circ\text{C}$ - $600^\circ\text{C}$ ) por el espacio de una hora; posteriormente el crisol se enfrió en desecador. Luego, se pesa aproximadamente de 1 a 3 g de extracto etanólico de la muestra vegetal estudiada, estos se mezclan en el interior de un crisol.

Posteriormente procedimos a colocar el crisol con la muestra, dentro de la mufla a una temperatura de 550°C - 600°C durante el periodo de 4 horas, transcurrido el tiempo se apaga la mufla y se deja enfriar el crisol durante una hora. Transcurrido el tiempo, se retira el crisol con los restos y se colocan en el desecador, se pesa el resultado de las cenizas cuando el crisol alcanza la temperatura ambiente. Calculando el residuo como cenizas totales.

#### **2.4.1.4.4. pH: AOAC 981.12.**

Este ensayo se determinó por el método potenciométrico, para ello, se preparó inicialmente una suspensión del extracto seco al 10%; seguidamente se realizó la calibración del Potenciómetro, una vez culminado este paso, se efectuó la medición del pH de la muestra previamente realizada.

#### **2.4.1.5. Métodos Para Determinar la Actividad Antioxidante:**

##### **2.4.1.5.1. Determinación de actividad antioxidante por método DPPH:**

El Fundamento del método desarrollado por Brand-Williams et al., DPPH (2, 2 –difetil-1-picrilhidracilo) este método se utiliza para evaluar la actividad antioxidante tanto en alimentos como extractos vegetales. Es un método colorimétrico de evaluación de actividad antioxidante basado en la reducción del radical estable DPPH, el cual inicialmente presenta coloración azul-violeta, variando hacia amarillo pálido por reacción con un compuesto antioxidante; la absorbancia es medida espectrofotométricamente a 515 nm.

Para el protocolo desarrollado se utilizaron 3.1 mg del radical DPPH y se diluyeron en 100 ml de metanol analítico al 80% y mediante el espectrofotómetro se estableció la absorbancia entre 0.9 – 1.0 a una longitud de onda de 517 nm (constituyo blanco de reactivo) (18).

Se tomo 2,9 mL del reactivo DPPH en viales independientes a los que se agregó 100 uL de las diferentes diluciones del extracto etanólico por duplicado, se agito vigorosamente y se deja en incubación en la oscuridad por espacio de 30 minutos; luego se volvió a leer la absorbancia a 517 nm. Se determino el correspondiente porcentaje de inhibición del promedio de cada concentración del extracto analizado.

$$\% \text{ Inh} = \frac{\text{Lectura de blanco} - \text{Lectura de muestra}}{\text{Lectura de blanco}} \times 100$$

#### **2.4.1.5.2. Determinación de actividad antioxidante por método FRAP:**

Se empleó la metodología recomendada por Benzie y Strain (1996), este método se emplea para evaluar la capacidad antioxidante de una muestra debido con su capacidad para reducir el ion férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa ( $\text{Fe}^{+2}$ ), debido a la donación de electrones de los antioxidantes, se mide la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm. Los resultados se expresarán como valores TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), mediante la construcción de una curva patrón usando diferentes concentraciones del estándar Trolox. (17).

El procedimiento consistió en la preparación del reactivo FRAP compuesto por acetato de sodio (300mM), tricloruro férrico 20 mM y una solución de TPTZ 10 mM en ácido clorhídrico 40 mM en una proporción de 10:1:1. Se tomo 3mL de reactivo preparado, se leyó la absorbancia a 593 mM, se adicióno 100uL de las disoluciones del extracto o patrón (en este caso se utilizó el trolox), se dejó en incubación por 30 minutos y se nuevamente se leyó la absorbancia. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado. Para la cuantificación se efectuó una curva de calibración con los valores de las disoluciones de trolox obtenida. la actividad antioxidante se expresa como equivalentes de trolox (TEAC).

#### **2.4.1.5.3. Determinación de actividad antioxidante por método ABTS:**

Este ensayo recomendado por Arnao et al. (2001), se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical  $\text{ABTS}^+$ , debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones.

El radical  $\text{ABTS}^+$  es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm. Los resultados se expresaron como valores TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), mediante la construcción de una curva patrón usando como solución estándar el Trolox (19).

El procedimiento implicó la obtención química del radical, previamente mediante la reacción del reactivo ABTS (0,0508mg en agua ultrapura) con persulfato de potasio (6,7mg) que se deja reaccionar por 16 a 18 horas. Luego se tomó 1 mL del reactivo y se diluyó a 70 ml con alcohol al 96° neutro que presentó una absorbancia de  $0,68 \pm 0,02$  unidades de absorbancia a una longitud de onda de 734 nm. Se tomó 2ml en un vial protegido de la luz y se adicionó 50 uL de las soluciones del extracto o el patrón usado, se dejó en incubación por 30 minutos y se volvió a leer la absorbancia. En el caso de las soluciones del trolox, con la diferencia de la absorbancia inicial menos la absorbancia final se construyó la curva de calibración, lo que permitió hallar el correspondiente de TEAC de cada una de las soluciones del extracto. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

#### **2.4.2. Lugar de experimentación**

El lugar donde efectuamos nuestra investigación fue la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, en el Laboratorio de Química General, el mismo que depende del departamento Académico de Ciencias Químicas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

#### **2.4.3. Técnicas de procesamiento de la información**

##### **Recolección de datos analíticos**

La recopilación de los datos se hizo en el cuaderno de trabajo correspondiente, en el cual se registraron y anotaron los resultados que se obtuvieron en cada una de las partes experimentales programadas el presente proyecto de investigación; detallando el método analítico aplicado para cada ensayo o prueba realizado durante el transcurso de toda la investigación.

##### **Procesamiento de datos**

Los datos se procesaron en Microsoft Excel 2019 y se presentaron como valores estándar, a partir de los cuales se construyeron los gráficos correspondientes.

#### **2.4.4. Análisis Estadístico**

Los datos que se obtuvieron durante el proceso de los ensayos que se llevaron a cabo para determinar la actividad antioxidante serán sometidos a métodos de análisis paramétrico tales como: la determinación de la media y desviación estándar, así como métodos no paramétricos como el coeficiente de correlación, para poder encontrar el IC<sub>50</sub> o TEAC según el método utilizado.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Resultados del Tamizaje fitoquímico

**Tabla 1.** Resultado del tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

FRACCIÓN	DETECCIÓN	MÉTODO	RESULTADO	
<b>Fracción A</b>	Taninos	Rx. de Gelatina-sal	-	
		Rx. de Cloruro férrico	+	
	Grupos aminos libres	Rx. de Ninhidrina	+	
<b>Fracción B</b>	Flavonoides	Rx. de Shinoda	+	
	Triterpenoides y/o esteroides	Rx de Liebermann Burchard	+	
	Antraquinonas	Rx. de Bornträger	-	
<b>Fracción C</b>	Alcaloides	Rx de Dragendorff	+	
		Rx. de Mayer	+	
		Rx. de Wagner	+	
<b>Fracción D</b>	Flavonoides	Rx. de Shinoda	+	
	Leucoantocianidinas y catequinas	Rx de Rosenheim	+	
	Esteroides y/o triterpenoides	Rx de Liebermann Burchard	+	
	Alcaloides	Rx de Dragendorff	+	
		Rx. de Mayer	+	
<b>Fracción E</b>	Alcaloides	Rx. de Wagner	+	
		Flavonoides	Rx. de Shinoda	+
		Leucoantocianidinas y catequinas	Rx de Rosenheim	+
<b>Fracción F</b>	Saponinas	Rx de Espuma	+	

Fuente: El autor; el signo (+) indica reacción positiva, signo (-) indica reacción negativa

## 3.2. Resultados de la Caracterización Físicoquímica

### 3.2.1. Sólidos Totales:

**Formula:**

$$\frac{WP_2 - WP_1}{WE} \times 100 \%$$

**Donde:**

- $WP_2$  = Peso de la placa Petri con residuo del extracto
- $WP_1$  = Peso de la placa Petri vacía
- $WE$  = Extracto etanólico

En el ensayo realizado obtuvimos los siguientes datos:

- **Peso de la placa Petri vacía:** 73.8857 g
- **Extracto etanólico:** 2.0603 g
- **Peso de la placa Petri con residuo del extracto:** 75.7924 g

**Reemplazando datos:**

$$S.T. = \frac{75.7924 \text{ g} - 73.8857 \text{ g}}{2.0603 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$S.T. = 92.5447\%$$

### 3.2.2. Cenizas

**Formula:**

$$\frac{WC_2 - WC_1}{WE} \times 100 \%$$

**Donde:**

- $WC_2$  = Peso del crisol con el residuo del extracto
- $WC_1$  = Peso del crisol vacío
- $WE$  = Extracto etanólico

En el ensayo realizado obtuvimos los siguientes datos:

- **Peso del crisol vacío:** 22,8448 g
- **Extracto etanólico:** 1,6289 g
- **Peso del crisol con el residuo del extracto:** 23,2679 g

**Reemplazando datos:**

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{21.1777\text{g} - 20.7218\text{ g}}{1.5874\text{ g}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Cenizas} = 28.7199$$

**Tabla 2.** Resultado de la caracterización fisicoquímica del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

<b>PARÁMETROS</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>UNIDADES</b>
<b>Solidos Totales</b>	92.54%	g/100g
<b>Solidos Solubles</b>	4.8%	g/100g
<b>Cenizas (°Brix)</b>	28.72%	g/100g
<b>pH</b>	5.19	-
<b>Color</b>	Verde oscuro	-
<b>Aspecto</b>	Espeso viscoso	-

### 3.3. Resultados del Método Antioxidante FRAP

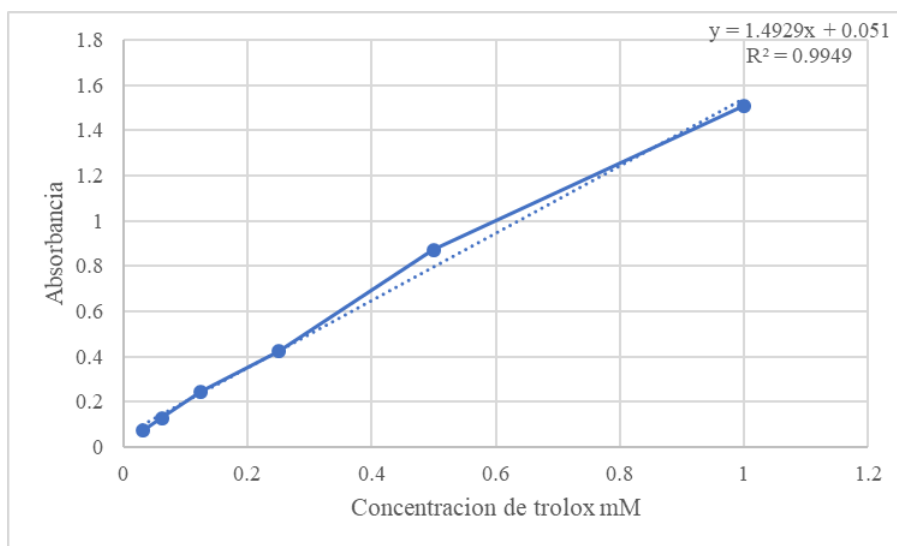
**Tabla 3.** Valores de absorbancia para la curva de calibración de trolox para el método de FRAP.

Concentración de Trolox (mM)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Absorbancia Promedio
0.0312	0.076	0.065	0.071
0.0625	0.129	0.124	0.127
0.125	0.247	0.241	0.244
0.25	0.425	0.421	0.423
0.5	0.871	0.872	0.872
1	1.505	1.513	1.508

Fuente: El autor.

La absorbancia promedio es el promedio de la absorbancia determinadas

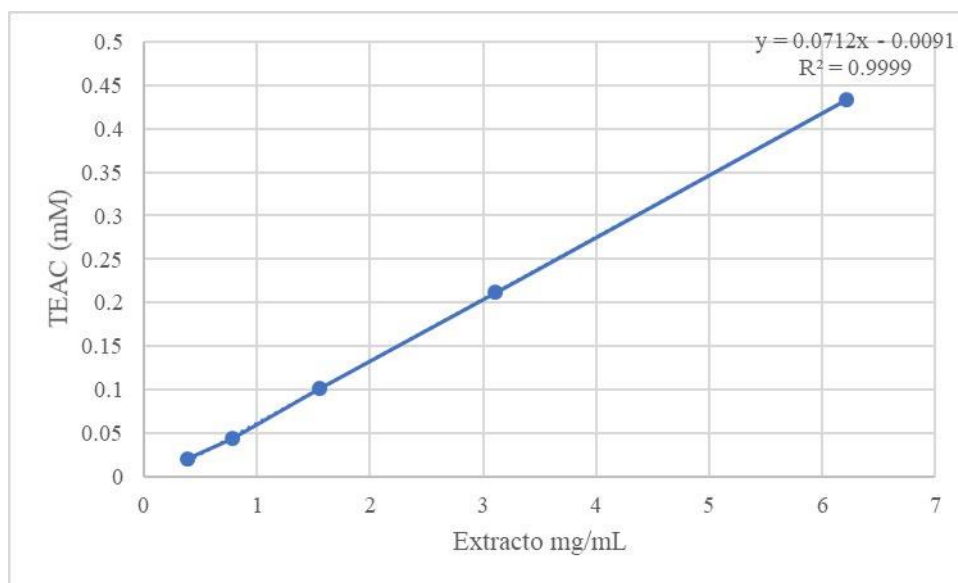
**Figura 3.** Curva de calibración de trolox por el método FRAP.



**Tabla 4.** Actividad antioxidante por el método FRAP del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” y su TEAC correspondiente.

Extracto (mg/mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Absorbancia Promedio	TEAC (mM)
0.39	0.089	0.076	0.083	0.021
0.78	0.121	0.113	0.117	0.044
1.55	0.206	0.197	0.202	0.101
3.11	0.371	0.363	0.367	0.212
6.21	0.699	0.696	0.698	0.433

**Figura 4.** Curva de correlación de concentración de extracto vs capacidad antioxidante equivalente al trolox.



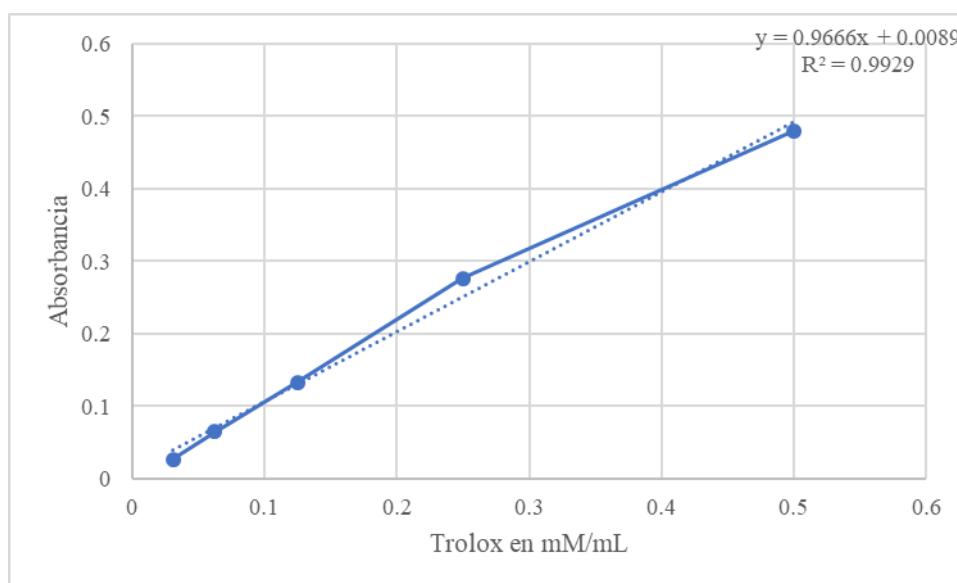
**TEAC = 1mg de extracto equivale a 0.080 mM de trolox**

### 3.4. Resultados del Método Antioxidante ABTS

**Tabla 5.** Valores de absorbancia para la curva de calibración de trolox para el método ABTS.

Concentración de Trolox (mM)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Absorbancia Promedio
0.0312	0.024	0.028	0.027
0.0625	0.061	0.068	0.065
0.125	0.138	0.127	0.133
0.25	0.278	0.273	0.276
0.5	0.497	0.463	0.48

**Figura 5.** Curva de calibración de trolox por el método ABTS.

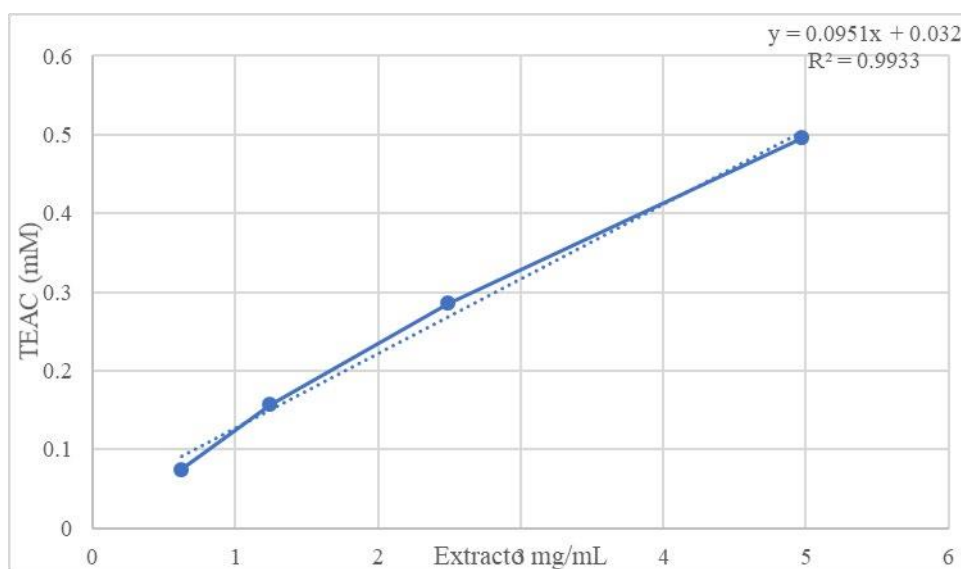


**Tabla 6.** Actividad antioxidante por el método ABTS del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” y su TEAC correspondiente.

Extracto (mg/mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Absorbancia Promedio	TEAC (mM)
0.62	0.083	0.079	0.081	0.075
1.24	0.159	0.163	0.161	0.157
2.49	0.286	0.284	0.285	0.286
4.97	0.49	0.486	0.488	0.496
9.94	0.558	0.55	0.554	fdc

Nota: fdc = Valor fuera de curva.

**Figura 6.** Curva de correlación de concentración de extracto vs capacidad antioxidante equivalente al trolox.



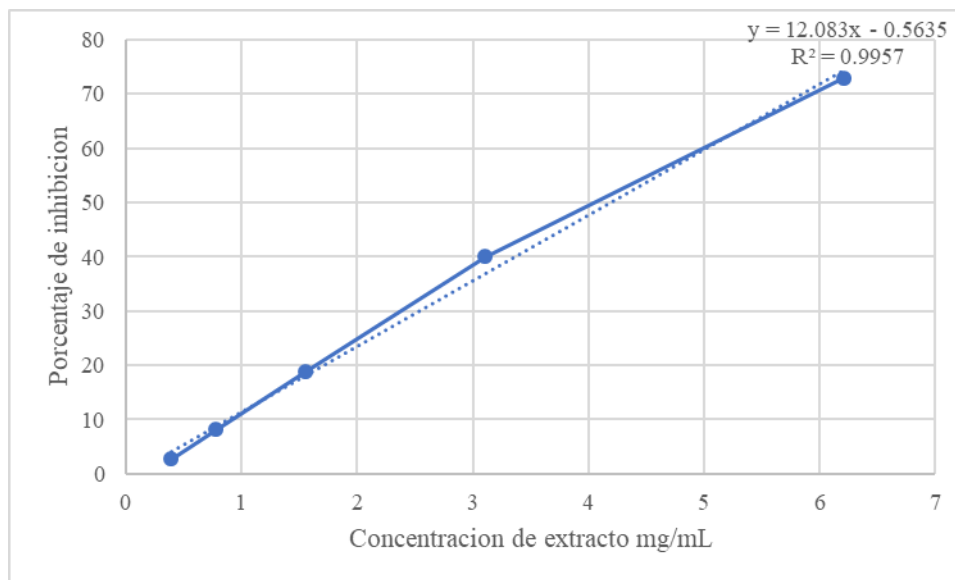
**TEAC = 1mg de extracto equivale a 0.128 mM de trolox**

### 3.5. Resultados del Método Antioxidante DPPH

**Tabla 7.** Valores de absorbancia y porcentaje de inhibición del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.

Extracto (mg/mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Absorbancia Promedio	%Inh
0.39	0.884	0.886	0.885	2.74
0.78	0.837	0.834	0.836	8.13
1.55	0.74	0.738	0.739	18.79
3.11	0.55	0.541	0.546	40
6.21	0.249	0.242	0.246	73
Blanco reactivo	0.91			

**Figura 7.** Curva de correlación de la concentración del extracto vs porcentaje de inhibición del radical DPPH.



Por lo tanto, el  $IC_{50} = 4.18$  mg

#### IV. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación, se realizó el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” y su capacidad de reducir el hierro férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ), presente en un complejo con la 2, 4, 6-tri (2-piridil)-S-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa ( $\text{Fe}^{+2}$ ), (FRAP). Así, como su capacidad antioxidante frente al 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH); teniendo como propósito ampliar con evidencias científicas algunas de las propiedades que han sido atribuidas a la hierba del alacrán por la medicina popular en la prevención y tratamiento de enfermedades relacionadas al estrés oxidativo.

El tamizaje fitoquímico realizado nos permitió determinar de manera cualitativa los principales grupos de fitoconstituyentes químicos de la planta. El método para la realización del tamizaje partió por fraccionamiento de una cantidad considerable del extracto etanólico, posteriormente se realizaron las reacciones detalladas en el método analítico en cada fracción, teniendo mayor interés en los resultados de las fracciones A, D y E, debido a que nos permitieron determinar la presencia de los metabolitos con capacidad antioxidante como se puede apreciar en la Tabla N° 1 donde se identificaron grupos aminos libres, flavonoides, triterpenoides y/o esteroides, taninos, alcaloides, leucoantocianidinas, catequinas y saponinas, muchos de los cuales son concordante con lo reportado por Suthar et al 2021 en el estudio “*Phytochemical Screening of Halophytic Plant Heliotropium curassavicum L.*” donde encontraron fitoconstituyentes como alcaloides, fenoles, taninos, esteroides y proteínas en los disolventes acetona y metanol, a pesar que la extracción de los metabolitos deben principalmente del solvente de y el método usado, en ambos estudios estamos hablando de solventes de naturaleza polar (etanol y metanol) o de mediana polaridad (acetona). Asimismo, Abd-ElGawad et al 2019, reporta que el aceite esencial de *Heliotropium curassavicum* presenta compuestos de naturaleza terpenica. Asimismo, Ghorri et al 2016 en un artículo de revisión reporta que muchas especies del género *Heliotropium* que crecen en Pakistán, presentan compuestos fitoquímicos de naturaleza alcaloides, terpenoides y flavonoides; Sohail et al 2014 también reporta los mismos metabolitos secundarios para la especie *Heliotropium bacciferum*.

Con respecto a la capacidad antioxidante del extracto mediante el método FRAP, podemos visualizar en la tabla N° 3, los valores de la concentración de las diluciones preparadas del Trolox (mM) que nos permitió hallar la correspondiente curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP (figura N° 3), donde observamos la generación de la siguiente ecuación:  $y = 1.4929x + 0.051$ ; con la pendiente con 1.4929 y el intercepto con 0.051; teniendo como coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 0.9949, que nos permitió hallar el correspondiente TEAC de cada una de las soluciones del extracto (tabla N° 4) y luego la curva de correlación de las concentraciones del extracto y sus respectivos equivalentes de trolox (figura N° 4) que nos facilita extrapolar los resultados para hallar el equivalente para cualquier concentración de extracto; este resultado hallado de 1mg equivalente a 0.080 mM de trolox es un valor bajo, lamentablemente este resultado no puede ser comparado, pues en ninguna de las bibliografías referencia se ha aplicado este método la determinación de la actividad antioxidante en esta especie.

En la Tabla N° 5, se pueden observar los valores de absorbancia obtenidos en cada concentración del patrón, lo que nos permitió establecer la correspondiente curva de calibración de trolox (figura N° 5) por el método del radical ABTS, originando la ecuación  $y = 0.9666x + 0.0089$  a través de la cual hallaremos los equivalentes de trolox respectivos para cada una de las diferentes diluciones del extracto ensayadas como se observa en la tabla N° 6, que posteriormente al establecer la correlación entre las concentraciones y sus respectivos TEAC se expresa en la figura N° 6, a partir de la cual extrapolamos la actividad antioxidante como equivalente de trolox a una determinada concentración, como hemos realizado en el presente estudio donde 1mg de extracto equivale a 0.128 mM de trolox; este valor comparado con lo reportado por Lissi et al 2009, valores equivalentes a 2.0 -5.2 M para exudados resinosos de algunas especies de *Heliotropium* son valores bajos; pero estos resultados obtenidos tienen cierta similitud a los obtenidos por Wasiullah et al 2019, en la fracción de dicloro-metanólica de las partes aéreas de esta especie de una zona de Pakistán.

Con respecto a la determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico por el método DPPH, en la tabla N° 7 se observan las diferentes concentraciones del extracto, sus absorbancias promedio, y sus respectivos porcentajes de inhibición del radical DPPH. Para poder calcular IC<sub>50</sub>, procedimos a relajar una curva de correlación entre concentraciones del extracto y sus respectivos porcentajes de inhibición (figura N° 7) la que generó la ecuación:  $y = 12.083x - 0.5635$ ; teniendo una pendiente 12,083 y con un intercepto de -0.5635 y lo permitió obtener un valor del IC<sub>50</sub> fue de 4.18 mg.

En atención a los estudios de actividad antioxidante de esta especie referenciados por este método, no se puede hacer una comparación directa con Lissie et al 2009, ni por Abd-ElGawad et, al 2019, ya que estos analizaron exudados y aceites esenciales respectivamente; mientras que comparado con el estudio de Wasiullah et al. 2019 presento valores  $IC_{50}$  entre 33 y 48 para los diferentes tipos de extractos, los valores obtenidos en el presente estudio son considerablemente menores, lo indica una mayor actividad antioxidante.

En referencia a identificar el método antioxidante que presenta mayor actividad en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* "hierba de alacrán"; debemos indicar existen dos mecanismo de acción por los que se determina la actividad antioxidante de la actividad antioxidante como son: la transferencia de electrones simples (SET) y la transferencia de átomos de hidrogeno (SAT); el método de FRAP se basa en el mecanismo SET, mientras que los otros dos métodos empleados se fundamenta en ambos mecanismo, mientras que el DPPH prioriza el mecanismo SET, el método ABTS prioriza el mecanismo HAT, de los resultados se descarta el método FRAP; mientras que entre los otros dos resulta más activo el método de DPPH, ya al transformar  $IC_{50}$  a equivalente de trolox resulta que 1mg del extracto equivale 0.138mM de trolox.

## V. CONCLUSIONES

1. En el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “Hierba del alacrán”, se comprobó la presencia de fitoconstituyentes a través del tamizajefitoquímico siendo los siguientes: grupos aminos libres, flavonoides, tripterenoides y/o esteroides, alcaloides, taninos, leucoantocianidinas, catequinas y saponinas; a los cuales se les podría atribuir una capacidad intermedia o moderada.
2. El extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “Hierba del alacrán”, presenta a través del método FRAP una baja capacidad antioxidante, por otro lado, mediante los métodos ABTS y DPPH presentan una actividad antioxidante intermedia o moderada.
3. Los componentes fitoquímicos a los cuales se les podría atribuir el efecto antioxidante del extracto etanólico *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán” serían los grupos aminos libres, flavonoides, tripterenoides y/o esteroides, alcaloides, taninos, leucoantocianidinas, catequinas y saponinas.
4. El extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “Hierba del alacrán”, presenta la mayor actividad antioxidante por el método DPPH.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Seguir con la investigación de la especie vegetal *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”, debido a que en el Perú se encuentra vagamente estudiada, mientras que, en países como la India, Pakistán y Egipto se están realizando investigaciones en otras actividades terapéuticas obteniendo resultados interesantes.
2. Continuar con la investigación relacionada a la gran cantidad de sales minerales que se obtuvieron como resultado del ensayo en la presente investigación, la cual fue una muestra tomada en la Región de Ica.
3. Sería óptimo un estudio comparativo entre muestras recolectadas de diferentes suelos, debido a que la gran presencia de sales puede ser indicativo de gran presencia de Silicatos o Carbamatos utilizados como un mecanismo de defensa de la especie vegetal.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abd-ElGawad A., Elshamy A., Al-Rowaily S., El-Amier Y. "*Habitat Affects the Chemical Profile, Allelopathy and Antioxidant Properties of Essential Oils and Phenolic Enriched Extracts of the Invasive Plant Heliotropium Curassavicum*". MDPI. [Internet] 2019 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 8(482). Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants8110482>
2. Sánchez V., Méndez N. "*Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad*". Revista Medica Sur. [Internet]. 2013 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 20(3): p. 161-168. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=79284>
3. Castañeda B., Ramos E., Ibañez L. "*Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas*". Revista Horizonte Médico. [Internet]. 2008 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 8(1): p. 56-72. Disponible en: <https://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/196>
4. Mostacero J., Peláez F., Alarcón M., De La Cruz J., Alva R., Charcape M. "*Plantas utilizadas para el tratamiento del cáncer expendidas en los principales mercados de la provincia de Trujillo, Perú, 2016 –2017*". Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. [Internet] 2019 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 18(1): p. 81-94. Disponible en: <https://doi.org/10.35588/blacpma.19.18.1.7>
5. Romeo R. "*Relevamiento de plantas empleadas en medicina popular en la Provincia de Jujuy, con especial referencia al departamento capital y alrededores*". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. [Internet] Argentina 2014 [Consultado el 27 de julio del 2024]. Disponible en: [http://repositorioubasibbi.uba.ar/gsd/cgibin/library.cgi?a=d&c=posgraafa&cl=CL1&d=HWA\\_798](http://repositorioubasibbi.uba.ar/gsd/cgibin/library.cgi?a=d&c=posgraafa&cl=CL1&d=HWA_798)
6. Lissi E., Modak B., Torres R., Escobar J., Urzua A. "*Total antioxidant potential of resinous exudates from Heliotropium species, and comparison of the ABTS and DPPH methods*". Taylor & Francis [Internet]. 2009 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 30(6): p. 471-477. Disponible en: [10.1080/10715769900300511](https://doi.org/10.1080/10715769900300511)

7. Wasiullah W., Jan S., Saeed A., Shad A., Basit A., Ullah F. "*Phytochemical Investigation and Pharmacological Activities of Heliotropium Curassavicum Linn.*" Latin American Applied Research. [Internet] 2019 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 49: p. 105-109. Disponible en: <https://doi.org/10.52292/j.laar.2019.369>
8. Suthar R., Solanki H. "*Phytochemical Screening of Halophytic Plant Heliotropium curassavicum L.*" International Journal of Scientific Research in Science and Technology. [Internet] 2021 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 8(2): p. 141-145. Disponible en: [10.32628/IJSRST218221](https://doi.org/10.32628/IJSRST218221)
9. Heliotropium Curassavicum L. Naturalista Web site. [Internet] 2014 [Consultado el 27 de julio del 2024]. Disponible en: <https://mexico.inaturalist.org/taxa/58058-Heliotropium-curassavicum>
10. Heliotropium Curassavicum L. Tropicos Web Site. [Internet] 2009 [Consultado el 27 de julio del 2024]. Disponible en: <https://www.tropicos.org/name/4000125>
11. Latorre D. "*Determinación de la capacidad antioxidante de Thymus vulgaris*". Tesis. Jaen: Universidad De Jaén. [Internet] Cajamarca, 2019 [Consultado el 27 de julio del 2024]. Disponible en: [https://crea.ujaen.es/bitstream/10953.1/10428/1/TFG\\_Galiano\\_Latorre\\_David.pdf](https://crea.ujaen.es/bitstream/10953.1/10428/1/TFG_Galiano_Latorre_David.pdf)
12. Mateos M.. "*Relación Estructura/Actividad de Proantocianidinas Procedentes de Fuentes Naturales de Origen Vegetal*". Tesis doctoral. Barcelona: Universidad de Barcelona, Departamento de Química Biológica y Modernización Molecular [Internet] 2013 [Consultado el 27 de julio del 2024]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10261/99216>
13. Vázquez A., Mejía J., García K., Velázquez G. "*Capacidad antioxidante: conceptos, métodos de cuantificación y su aplicación en la caracterización de frutos tropicales y productos derivados*". Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales [Internet] 2021 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 9(1). Disponible en: <https://doi.org/10.23850/24220582.4023>
14. Pujol A., Garcia, B., Tamargo, E. Salas. "*Tamizaje fitoquímico de extractos obtenidos de la planta Sapindus saponaria L. que crece en Cuba*". Revista Bionatura [Internet] 2020 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 2020; 5(3). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2020.05.03.7>

15. Hinojosa A., Vargas J., Mendieta H., Martínez A., Gonzales A. “*Mecanismos moleculares que median el efecto protector del estrés oxidativo*”. *Inteligencia Epidemiológica*. [Internet] 2023 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 13(2): p. 26-30. Disponible en: <https://ddsisem.edomex.gob.mx:24243/index.php/iecevece/article/view/284>
16. Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C. "Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity". *LWT- Food Science and Technology*. [Internet] 1995 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 28(1): p. 25-30. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
17. Latimer G., Horwitz W. “*Methods Officials of Analysis of AOAC International*”. 15<sup>va</sup> Edición. Arlington, Virginia. [Internet] 1990 [Consultado el 27 de julio del 2024]. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>
18. Benzie I, Strain J. "The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay". *Analytical Biochemistry*. [Internet] 1996 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 239(1): p. 70-76. Disponible en: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
19. Arnao M., Cano A., Acosta M. "The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity". *Food Chemistry*. [Internet] 2001 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 73(2): p. 239-244. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00324-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00324-1)
20. Ghori M.K, Ghaffari MA, Nawazhussain S, Manzoor M, Aziz M, Sarwer W. "Ethnopharmacological, Phytochemical and Pharmacognostic Potential of Genus *Heliotropium L.*" *Revista: Turkish Journal Pharmaceutical sciences*. [Internet] 2016 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 13(2), 259-280. Disponible en: [https://turkjps.org/article\\_11027/Ethnopharmacological-Phytochemical-And-Pharmacognostic-Potential-Of-Genus-Heliotropium-L](https://turkjps.org/article_11027/Ethnopharmacological-Phytochemical-And-Pharmacognostic-Potential-Of-Genus-Heliotropium-L)
21. Sohail A, Shabir A, Ahtaram B, Muhammad I, Muhammad S, Farina K, Muhammad Z, Farid F. "Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity, Fatty Acids Composition, and Functional Group Analysis of *Heliotropium bacciferum*". *Revista: The Scientific World Journal* [Internet] 2014 [Consultado el 27 de julio del 2024]; 2014 (1), Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2014/829076>

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1. Matriz de Consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p><b>Pregunta general:</b></p> <p>¿Qué componentes fitoquímicos están presentes y cuál es la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”?</p> <p><b>Pregunta específica 1:</b></p> <p>¿Tendrá el extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” actividad antioxidante?</p> <p><b>Pregunta específica 2:</b></p> <p>¿Cuál de los componentes fitoquímicos podrían ser los responsables de la actividad antioxidante de la planta <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”?</p> <p><b>Pregunta específica 3:</b></p> <p>¿Cuál de los métodos presenta mayor capacidad antioxidante en el extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”?</p>	<p><b>Objetivo general</b></p> <p>Evaluar el contenido de los compuestos fitoquímicos y la capacidad antioxidante que están presentes en el extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”.</p> <p><b>Objetivo específico 1</b></p> <p>Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP.</p> <p><b>Objetivo específico 2</b></p> <p>Determinar los posibles componentes fitoquímicos responsables de la actividad antioxidante en el extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”.</p> <p><b>Objetivo específico 3</b></p> <p>Identificar el método antioxidante que presenta mayor actividad en el extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”.</p>	<p><b>Hipótesis General:</b></p> <p>El extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” presenta diversos compuestos fitoquímicos y una apreciable capacidad antioxidante.</p> <p><b>Hipótesis Específicas 1:</b></p> <p>El extracto etanólico de las partes aéreas de la planta <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” presenta actividad antioxidante en los 3 métodos analizados.</p> <p><b>Hipótesis Específicas 2</b></p> <p>Los componentes fitoquímicos responsables del efecto antioxidante del extracto etanólico <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán” serían los flavonoides.</p> <p><b>Hipótesis Específicas 3</b></p> <p>El método ABTS presentará mayor actividad antioxidante en el extracto etanólico de las partes aéreas de la planta <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”.</p>	<p><b>Variable independiente:</b></p> <p>Extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”</p> <p><b>Variable dependiente:</b></p> <p>Actividad Antioxidante</p>	<p><b>Tipo de estudio:</b></p> <p>Diseño Experimental.</p> <p><b>Nivel de investigación:</b></p> <p>Descriptivo- Explicativo</p> <p><b>Diseño de estudio:</b></p> <p>Cualitativo-Transversal</p> <p><b>Población de estudio:</b></p> <p>Extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “hierba del alacrán”</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>Muestra vegetal: Partes aéreas de <i>Heliotropium Curassavicum</i> “Hierba del alacrán”</p>

**Figura 8.** Clasificación botánica por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (N° 039-USM-MHN-2023).

 	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS</b> (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA) <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b>	
<hr/> <p>“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”</p> <hr/>		
<b>CONSTANCIA N° 039-USM-MHN-2023</b>		
<p>LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>		
<p>La muestra vegetal (fértil) recibida de <b>Marycielo Emy Flores Hernandez</b>, estudiante de pregrado de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica ha sido estudiada y clasificada como: <i>Heliotropium curassavicum</i> L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).</p>		
<p>ORDEN : Boraginales</p>		
<p>FAMILIA : BORAGINACEAE</p>		
<p>GÉNERO : <i>Heliotropium</i></p>		
<p>ESPECIE : <i>Heliotropium curassavicum</i> L.</p>		
<p>Nombre vulgar: “Hierba de alacrán”</p>		
<p>Procedencia: Ica</p>		
<p>Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.</p>		
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.</p>		
<p>Lima, 3 de marzo de 2023</p>		
<p> Dra. Joaquina Alban Castillo E. JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)</p> 		
<hr/>		
Av. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-034, Lima 14, Perú	Telfs. (511)471-0117, 470-4471 265-6819, 619-7000 anexo 5703	e-mail: herbariumsm@unmsm.edu.pe <a href="https://museo hn.unmsm.edu.pe">https://museo hn.unmsm.edu.pe</a>

**Figura 9.** Secado de la muestra vegetal *Heliotropium Curassavicum*  
“Hierba del alacrán”.



**Figura 10.** Filtrado del extracto etanólico de las partes aéreas de  
*Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.



**Figura 11.** Secado del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.



**Figura 12.** Obtención del extracto seco *Heliotropium Curassavicum*  
“Hierba del alacrán”.



**Figura 13.** Fraccionamiento del extracto etanólico de las partes aéreas de  
*Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.



**Figura 14.** Pesado del extracto seco de las partes aéreas *Heliotropium Curassavicum* “Hierba del alacrán”.



**Figura 15.** Determinación de cenizas del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.



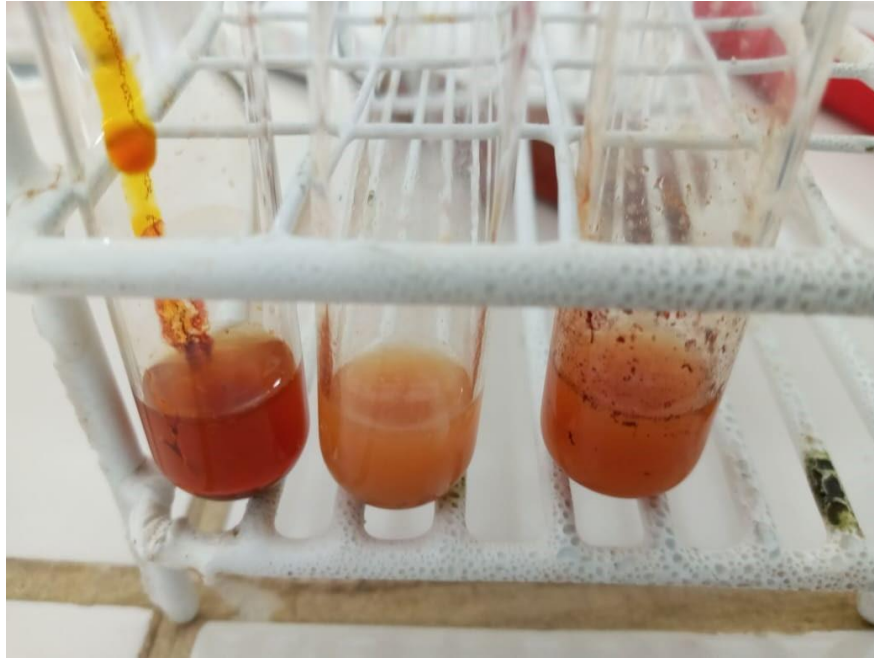
**Figura 16.** Determinación de Sólidos Totales del extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.



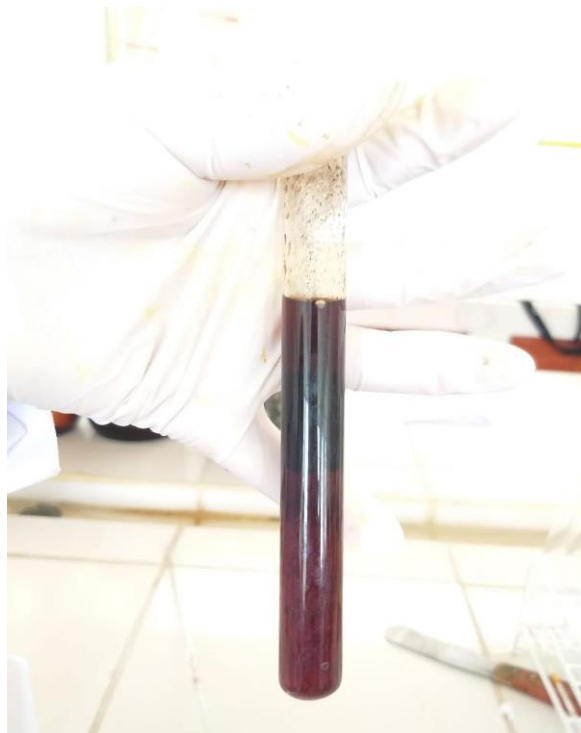
**Figura 17.** Reacción de identificación de flavonoides en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.



**Figura 18.** Reacción de identificación de alcaloides en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.



**Figura 19.** Reacción de identificación de taninos en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.



**Figura 20.** Reacción de identificación de aminoácidos en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”.



**Figura 21.** Reacción de identificación de saponinas en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Heliotropium Curassavicum* “hierba del alacrán”

