Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

Composición química y actividad antioxidante de propóleo procedente de Oxapampa - Pasco y diseño de una forma farmacéutica

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctora en Farmacia y Bioquímica

AUTOR

Shyla Margot DEL AGUILA ARCENTALES

ASESOR

Dra. Norma Julia RAMOS CEVALLOS

Lima, Perú

2025



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Del Aguila S. Composición química y actividad antioxidante de propóleo procedente de Oxapampa - Pasco y diseño de una forma farmacéutica [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2025.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Shyla Margot Del Aguila Arcentales
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	06674050
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-9532-6462
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Norma Julia Ramos Cevallos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	25469870
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4361-1330
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Edgar Robert Tapia Manrique
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09440524
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	José Alfonso Apesteguia Infantes
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09359857

Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Davis Alberto Mejía Pinedo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	41490146

Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Norma Julia Ramos Cevallos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	25469870
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.1.1. Plantas medicinales con potencial farmacéutico y productos terapéuticos: (Estudios fitoquímicos, estudios toxicológicos, estudios farmacológicos, procesos de industrialización).
Grupo de investigación	No aplica
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima (Cercado de Lima – Barrios Altos) Urbanización: No aplica Manzana y lote: No aplica Calle: Avenida Miguel Grau N°. 755 Latitud: -12.05547 Longitud: -77.0235
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2024-2025
URL de disciplinas OCDE	Química orgánica https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.04.01

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE DOCTORA EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Siendo las **14:00 hrs. del 10 de setiembre de 2025** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado de tesis, presidido por el: Dr. Edgar Robert Tapia Manrique e integrado por los siguientes miembros: Dra. Norma Julia Ramos Cevallos (asesora), Dr. José Alfonso Apesteguia Infantes y el Dr. Davis Alberto Mejía Pinedo, para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"Composición química y actividad antioxidante de propóleo procedente de Oxapampa - Pasco y diseño de una forma farmacéutica"**, presentado por la Magíster en Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética **Shyla Margot Del Aguila Arcentales.**

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Doctora en Farmacia y Bioquímica**, Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduanda.

A continuación, el Jurado de la tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

Excelente (20) veinte

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Magíster en Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética **Shyla Margot Del Aguila Arcentales,** el Grado Académico de **Doctora en Farmacia y Bioquímica**.

Siendo las 15.00 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 15:10 hrs. del 10 de setiembre del 2025

Dr. Edgar Robert Tapia Manrique (P. Asoc. T.C.)
Presidente

Dra. Norma Julia Ramos Cevallos (P.P, T. C.)
Miembro - Asesora

Dr. Jose Alfonso Apesteguia Infantes (P. P.T.C.)
Miembro

Dr. Davis Alberto Mejía Pinedo (P. Aux, T.P.)
Miembro

Observaciones:

Jr. Puno 1002 – Lima 1
Apartado Postal 4559 Lima 1
Teléfono 619-7000 anexo 4812
Email:upg.farmacia@unmsm.edu.pe

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, Decana de América

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Dra. Norma Julia Ramos Cevallos, en mi condición de asesora acreditado con el Dictamen N° 00056/FFB-UPG/2025 de la tesis, cuyo título es: **Composición química y actividad antioxidante de propóleo procedente de Oxapampa - Pasco y diseño de una forma farmacéutica,** presentado por la Mg**. Shyla Margot Del Aguila Arcentales,** para optar al Grado Académico de Doctora en Farmacia y Bioquímica, CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el **10**% de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del Grado Académico de Doctora en Farmacia y Bioquímica.

Lima, 20 de junio de 2025

UNMSM

Firmado digitalmente por RAMOS CEVALLOS Norma Julia FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 20.06.2025 15:19:39 -05:00

Firma del Asesora _____

Dra. Norma Julia Ramos Cevallos

DNI: 25469870

DEDICATORIA

El esfuerzo que hacemos cada día siempre será parte del logro familiar. Por ello, quiero dedicar a mi familia este logro y deseo que pueda servir de inspiración para todos nosotros para confirmar que todos los sueños pueden hacerse realidad.

AGRADECIMIENTOS

A la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

A la Dra. Norma Ramos Cevallos por toda su guía en este proceso tan inspirador y que ha permitido mi crecimiento personal y profesional.

ÍNDICE

RESUMEN 3
SUMMARY 4
RESUMO 5
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN 6
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO 8
II.1. Antecedentes de la Investigación 8
II.2. Bases Teóricas 12
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA 15
III.1. Tipo y diseño de investigación 15
III.2. Consideraciones éticas 15
III.3. Diseño metodológico 15
III.4. Unidad de análisis 15
III.5. Población de estudio 15
III.6. Muestra o tamaño de muestra 15
III.7. Criterios de selección 15
III.8. Técnicas o instrumentos de recolección de la información o de datos 16
III.8.1. Colecta y tratamiento del material vegetal 16
III.8.2. Obtención del extracto etanólico 16
III.8.3. Análisis químico 16
III.8.4. Determinación de polifenoles 16
III.8.5. Determinación de flavonoides 17
III.8.6. Determinación de la actividad antioxidante 17
III.9. Procesamiento de la información o de datos 19
CAPÍTULO IV: RESULTADOS 20
IV.1. Resultados laboratoriales 20
IV.1.1 Obtención del extracto etanólico 20
IV.1.2 Tamizaje fitoquímico 21
IV.1.3 Determinación de polifenoles 21
IV.1.4 Determinación de flavonoides 22
IV.1.5 Método de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS•+) 23
IV.1.6 Método de poder reductor férrico (FRAP) 25
IV.1.7 Diseño y formulación de las tabletas masticables 27
IV.1.8 Agente de complejación para enmascaramiento del sabor amargo 27

IV.1.9 Sistema aglutinante-desintegrante....28
IV.1.10 Sistema lubricante-adherente....28
IV.1.11 Diseño de la matriz....28
IV.2. Análisis de mercado para el lanzamiento del producto basado en propóleo....29
IV.2.1 Business Model CANVAS....29
1. Socios clave....29
2. Actividades clave....30
3. Propuesta de valor....30
4. Relación con clientes....31
5. Segmentos de clientes....31
6. Recursos clave....32
7. Canales....33
IV.2.2 Modelamiento con ecuaciones estructurales para estudios de campo....33
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN....37
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES....48
CAPÍTULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS....49
CAPÍTULO VIII: ANEXOS....56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rendimiento del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco. 20
Tabla 2. Ensayo de solubilidad del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco. 20
Tabla 3. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco.....21
Tabla 4. Polifenoles del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco. 22
Tabla 6. Actividad antioxidante del extracto etanólico del propóleo de Oxapampa, Pasco por el método ABTS•+ 24
Tabla 7. Poder reductor férrico del extracto etanólico del propóleo de Oxapampa, Pasco. 26
Tabla 8. Composición de la formulación 28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfica lineal del Ácido gálico para determinación de polifenoles.....22
Figura 2. Gráfica lineal de la quercetina para determinación de flavonoides. 23
Figura 3. Gráfica lineal del Trolox frente al radical catiónico ABTS•+. 24
Figura 4. Gráfica lineal del extracto etanólico del propóleo de Oxapampa, Pasco frente al radical catiónico ABTS•+.....25

RESUMEN

El propóleo producido por abejas es un recurso nutricional y terapéutico en Perú, especialmente por sus propiedades antioxidantes. En Pasco, ciudad ubicada a 4338 metros de altitud, su diversidad vegetal enfrenta insuficiencias nutricionales y oportunidades de investigación; además, el Perú enfrenta graves problemas de salud pública, como anemia y desnutrición, exacerbados por la pobreza en áreas rurales. El objetivo del presente estudio es evaluar la composición química, actividad antioxidante del extracto etanólico de propóleo procedente de Oxapampa y su aplicación en una forma farmacéutica. Se realizó un tamizaje fitoquímico basado en las reacciones de coloración y precipitación, se determinó el contenido de polifenoles y flavonoides mediante métodos espectrofotométricos, respecto a la actividad antioxidante se utilizaron los métodos ABTS●+ y FRAP, por último, se formula una forma farmacéutica del extracto etanólico de propóleo en tabletas masticables. Se determinó de manera cualitativa la presencia de alcaloides, taninos, heterósidos, glicósidos y terpenoides en grandes cantidades. La cuantificación de polifenoles y flavonoides dio como resultados 544,01 mg AG/g extracto y 162,32 mg QE/g extracto respectivamente. Respecto a la actividad antioxidante, el TEAC-ABTS tuvo un resultado de 164,75 mg trolox/g extracto y el AEAC-FRAP tuvo como resultado 49 mg AA/g extracto. Se presenta la formulación de tabletas masticables de propóleo, considerando como elemento principal el enmascaramiento del sabor amargo y su facilidad de disolución; asimismo, se presenta el análisis para el lanzamiento al mercado de una tableta masticable de propóleo. Se ha podido concluir que el extracto etanólico de propóleo presentó gran cantidad de compuestos bioactivos con interés farmacéutico.

Palabras clave: Composición química, antioxidante, propóleo, polifenoles.

SUMMARY

Propolis, produced by bees, is a nutritional and therapeutic resource in Peru, especially for its antioxidant properties. In Pasco, a city located at an altitude of 4,338 meters, its plant diversity faces nutritional deficiencies and presents research opportunities; additionally, Peru faces serious public health problems, including anemia and malnutrition, which are exacerbated by poverty in rural areas. The objective of this study is to evaluate the chemical composition and antioxidant activity of the ethanolic propolis extract from Oxapampa and its application in a pharmaceutical form. A phytochemical screening based on coloration and precipitation reactions was performed, and spectrophotometric methods determined the content of polyphenols and flavonoids. Regarding antioxidant activity, the ABTS●+ and FRAP methods were used. Finally, a pharmaceutical form of the ethanolic propolis extract is formulated in chewable tablets. The presence of alkaloids, tannins, heterosides, glycosides, and terpenoids in large quantities was qualitatively determined. The quantification of polyphenols and flavonoids resulted in 544.01 mg AG/g extract and 162.32 mg QE/g extract, respectively. Regarding antioxidant activity, the TEAC-ABTS assay resulted in 164.75 mg trolox/g extract, and the AEAC-FRAP assay resulted in 49 mg AA/g extract.The formulation of chewable propolis tablets is presented, considering the masking of the bitter taste and ease of dissolution as the main elements; An analysis for the market launch of a chewable propolis tablet is also presented. It was concluded that the ethanolic propolis extract contained a large number of bioactive compounds of pharmaceutical interest.

Key words: Chemical composition, antioxidant, propolis, polyphenols.

RESUMO

A própolis, produzida por abelhas, é um recurso nutricional e terapêutico no Peru, especialmente por suas propriedades antioxidantes. Em Pasco, cidade localizada a 4.338 metros de altitude, sua diversidade vegetal enfrenta deficiências nutricionais e oportunidades de pesquisa; além disso, o Peru enfrenta sérios problemas de saúde pública, como anemia e desnutrição, agravados pela pobreza nas áreas rurais.. O objetivo deste estudo é avaliar a composição química e a atividade antioxidante do extrato etanólico de própolis de Oxapampa e sua aplicação em uma forma farmacêutica. Uma triagem fitoquímica baseada em reações de coloração e precipitação foi realizada, e o conteúdo de polifenóis e flavonoides foi determinado por métodos espectrofotométricos. Em relação à atividade antioxidante, foram utilizados os métodos ABTS●+ e FRAP. Finalmente, uma forma farmacêutica do extrato etanólico de própolis é formulada em comprimidos mastigáveis. A presença de alcaloides, taninos, heterosídeos, glicosídeos e terpenoides em grandes quantidades foi determinada qualitativamente. A quantificação de polifenóis e flavonoides resultou em 544,01 mg de AG/g de extrato e 162,32 mg de QE/g de extrato, respectivamente. Em relação à atividade antioxidante, o ensaio TEAC-ABTS resultou em 164,75 mg de trolox/g de extrato, e o ensaio AEAC-FRAP resultou em 49 mg de AA/g de extrato. Apresenta-se a formulação de comprimidos mastigáveis de própolis, considerando o mascaramento do sabor amargo e a facilidade de dissolução como principais elementos. Apresenta-se também uma análise para o lançamento no mercado de um comprimido mastigável de própolis. Concluiu-se que o extrato etanólico de própolis continha um grande número de compostos bioativos de interesse farmacêutico.

Palavras chave: Composição química, antioxidante, própolis, polifenóis.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El propóleo es una sustancia resinosa elaborada por las abejas; su uso ha cobrado importancia en Perú como un recurso nutricional y terapéutico prometedor, especialmente debido a sus propiedades antioxidantes que derivan de su composición química. En la región de Pasco, donde la diversidad de plantas andinas puede afectar las características de este producto, se enfrenta a una situación compleja que combina necesidades nutricionales apremiantes con oportunidades de investigación aún no aprovechadas. El Perú enfrenta serios desafíos en salud pública: 40% de los niños menores de tres años presenta anemia por falta de hierro, y 12,1% padece desnutrición crónica, según datos del INEI (1); asimismo, en el año 2023, la anemia afectó al 43,1% de las niñas y niños de 6 a 35 meses de edad (2).

Estas dificultades se intensifican en áreas altoandinas como Pasco, donde 65% de la población rural vive en condiciones de pobreza multidimensional, lo que restringe el acceso a alimentos ricos en antioxidantes y nutrientes esenciales (1, 3).

El propóleo proveniente de Pasco posee una combinación distintiva de flavonoides (18-23%), como galangina, pinocembrina y crisina; ácidos fenólicos como caféico y ferúlico; así como terpenos y ésteres aromáticos. Investigaciones recientes indican que su extracto etanólico al 15% tiene una capacidad para atrapar radicales libres que equivale al 82% del estándar Trolox, superando las muestras de otras regiones andinas. Esta actividad se atribuye principalmente a los polifenoles, que neutralizan especies reactivas de oxígeno y pueden quelar metales prooxidantes como el hierro a través de mecanismos de transferencia electrónica (4).

No obstante, se presentan diversas problemáticas. Primero, hay una falta de documentación sobre la variabilidad en su composición. Aunque se sabe que esta depende de la flora local, no existen estudios específicos que analicen las especies vegetales en Pasco que influyen en su perfil fitoquímico. Asimismo, se observa una subutilización del propóleo en programas nutricionales (5). A pesar de que EsSalud sugiere su uso para fortalecer el sistema inmunológico, no ha sido incorporado formalmente en estrategias para combatir la anemia o la desnutrición, especialmente entre poblaciones infantiles

vulnerables. Además, la ausencia de estandarización es un problema crítico; los estudios sobre propóleos peruanos revelan variaciones de entre 30 a 45% en el contenido de flavonoides entre diferentes cosechas, lo que complica la dosificación terapéutica precisa. Por último, la evidencia clínica local es escasa. La mayoría de los estudios existentes se enfocan en muestras brasileñas y mexicanas, con solo dos publicaciones indexadas sobre propóleos peruanos en los últimos cinco años (6, 7).

Es importante realizar un mapeo fitoquímico del propóleo de Pasco comparado con otras regiones, llevar a cabo ensayos clínicos para evaluar su efecto sobre marcadores de estrés oxidativo en poblaciones anémicas, desarrollar protocolos estandarizados conforme a las normativas del INS y realizar estudios sobre la biodisponibilidad de sus compuestos activos. La incorporación de este recurso natural en políticas alimentarias podría ofrecer una solución costo-efectiva a problemas nutricionales endémicos, especialmente en áreas de gran altitud donde el estrés oxidativo se ve exacerbado por la hipoxia crónica. Sin embargo, la falta de caracterización específica y evidencia local limita su aplicación efectiva, presentando un desafío científico-social que requiere atención multidisciplinaria inmediata. La presente investigación persiguió los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la composición química, actividad antioxidante del extracto etanólico de propóleo procedente de Oxapampa y su aplicación en una forma farmacéutica.

Objetivos específicos

- Determinar el contenido de polifenoles y flavonoides del extracto etanólico de propóleo procedente de Oxapampa mediante métodos espectrofotométricos y reacciones de coloración.
- Determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de propóleo procedente de Oxapampa mediante los métodos ABTS●+ y FRAP.
- Hacer el diseño de una forma farmacéutica a base de propóleo procedente de Oxapampa - Pasco.
- Realizar un análisis de mercado para conocer los componentes clave de un modelo de negocio basado en tabletas masticables de propóleo.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

II.1. Antecedentes de la Investigación

En 2018, Hernández et al llevaron a cabo una evaluación del propóleo proveniente de diferentes zonas de Guanajuato, México, para determinar su contenido de flavonoides y fenoles, así como su capacidad antioxidante. Los análisis revelaron una concentración de flavonoides que fluctuó entre 13 y 379 mg QE/g de propóleo, mientras que el contenido fenólico se encontró en un rango de 68 a 500 mg CAE/g. La capacidad antioxidante, medida a través de los métodos DPPH y FRAP, mostró una actividad equivalente a trolox (TEAC) con variaciones de 39,8 a 54,4 y de 50 a 2000, respectivamente. A pesar del alto contenido en flavonoides y fenoles, los propóleos presentaron una capacidad antioxidante baja en general. Estos hallazgos indican que los propóleos recolectados en diferentes áreas de Guanajuato son ricos en flavonoides y compuestos fenólicos, aunque su capacidad antioxidante es variable (8).

En 2019, Irigoiti et al compararon el contenido de polifenoles y flavonoides, así como la capacidad antioxidante y las características espectroscópicas de un extracto etanólico de propóleos (EEP) al 10% p/v, obtenido de Pereira, Colombia, tanto en su forma original como liofilizada y resuspendida en etanol. Los resultados mostraron que el EEP sin liofilizar contenía 420,00±14,14 mg AG/g de polifenoles totales y 45,07±1,14 mg quercetina/g de flavonoides. En contraste, el EEP liofilizado presentó valores de 362,50±10,61 mg AG/g de polifenoles y 42,06±4,51 mg quercetina/g. En cuanto a la capacidad antioxidante, el EEP sin liofilizar mostró una EC50 de 42,96 mg propóleos/mg DPPH en el ensayo DPPH y 1,56±0,11 µmol trolox/mg en el ensayo ABTS. Por su parte, el EEP liofilizado tuvo valores de 39,75 mg propóleos/mg DPPH y 1,32±0,05 µmol trolox/mg en ABTS. Se encontraron diferencias significativas solo en la determinación de polifenoles totales. Los análisis espectroscópicos revelaron que ambos extractos presentaron un máximo de absorción a 290 nm en los espectros UV-vis, característico del propóleo (9).

En 2019, Abdullah et al evaluaron el extracto etanólico de propóleo de la abeja Heterotrigona itama en Tutong, Brunei, mostrando potente citotoxicidad selectiva contra las células de cáncer pancreático humano PANC-1, con un valor de PC50 de 14,0 µg/mL

en condiciones de privación de nutrientes. El estudio permitió aislar un total de 15 triterpenoides pertenecientes a la familia de los cicloartanos, entre los cuales se identificaron cinco compuestos inéditos, además de un triterpenoide del tipo lanostano. La elucidación estructural de las nuevas moléculas se llevó a cabo mediante técnicas espectroscópicas de resonancia magnética nuclear (RMN). Destacaron, entre los compuestos obtenidos, el ácido 23-hidroxiisomangiferólico B y el ácido 27-hidroxiisomangiferólico, los cuales exhibieron la mayor actividad citotóxica frente a células PANC-1, con concentraciones PC50 de 4,3 y 3,7 µM, respectivamente. Estos hallazgos sugieren que el propóleo de Trigona minor podría ser una fuente prometedora para el desarrollo de tratamientos anticancerígenos (10).

En 2021, Siqueira et al probaron la eficacia de la tableta masticable de propóleo rojo de Brasil y xilitol para reducir las concentraciones de microorganismos como *Streptococcus mutans* y bacterias gramnegativas. Doce voluntarios de ambos sexos sin caries, usuarios de aparatos de ortodoncia fijos y con índice de placa visible fueron asignados aleatoriamente a uno de dos grupos. Se analizó la aparición de efectos secundarios. Se evidenció que las tabletas masticables de propóleo y xilitol tenían actividad antimicrobiana, reduciendo la concentración de bacterias gram negativas y *Streptococcus mutans* (11).

En 2022, Flores Álvarez evaluó las propiedades de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábiga y maltodextrina. El propóleo fue obtenido de Cuncataca, Chaccamarca y Huinchos en la provincia de Andahuaylas. Se encontró que los flavonoides totales estaban entre 1,81 y 2,26 mg de quercetina/g de muestra; los compuestos fenólicos totales evidenciaron valores entre 1,76 y 3,38 mg de ácido gálico equivalente/g de muestra. Asimismo, la capacidad antioxidante por DPPH fue de 10,33 y 12,55 µmol de trolox equivalente/g de muestra y por ABTS osciló entre 1,03 y 2,33 µmol de trolox equivalente/g de muestra (12).

En 2023, Arias et al analizaron el efecto del tratamiento con propóleo en vivo sobre las características histopatológicas del cartílago articular de la rodilla en ratas ancianas. Para ello, se utilizó un grupo de veinte ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, que fueron distribuidas aleatoriamente en cuatro grupos para facilitar un análisis comparativo. Se

realizaron exhaustivos análisis histológicos y estereológicos del cartílago articular. Los resultados indicaron que el tratamiento con propóleo tuvo un efecto significativo en la disminución de la gravedad de la osteoartritis, mejorando la estructura del cartílago y aumentando la densidad de los condrocitos. Estos hallazgos resaltan el potencial del propóleo como un agente terapéutico eficaz para mitigar los cambios en el cartílago relacionados con la edad y, además, podrían contribuir a prevenir el desarrollo de osteoartritis (13).

En 2023, Karaoğlu et al. desarrollaron una formulación de tabletas masticables que combinan propóleo con extractos de tres hierbas autóctonas de Estambul, Turquía. Esta formulación se pensó para ofrecer una posible protección contra infecciones virales, incluyendo dos variantes del SARS-CoV-2 (Wuhan B.1.36 y Omicron BA.1.1). Los componentes activos seleccionados para estas tabletas fueron extracto de té verde, extracto de arándano, extracto de cáscara seca de granada y propóleo. Se examinaron la citotoxicidad y la actividad antivírica de cada componente, así como del comprimido masticable desarrollado, frente al virus coronavirus-2 del SARS-CoV-2; además, se evaluaron las actividades antiinflamatorias y analgésicas, así como la mutagenicidad y antimutagenicidad de la tableta masticable. En comparación con el control, se observó que el comprimido masticable a concentraciones de 110 y 55 μg/mL presentaba índices de actividad antiviral de 101% y 81%, respectivamente, para la variante Wuhan, y de 112% y 35%, respectivamente, para la variante Omicron. La combinación de extractos de hierbas con extracto de propóleo fue sinérgicamente más eficaz que la del extracto individual (14).

En 2024, de Santana Neto et al compararon las propiedades antioxidantes de dos propóleos de Brasil: propóleos verdes (Apis mellifera) (AM) y propóleos de Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata* anthidiodes) (MP). Se emplearon tres procedimientos diferentes: en el primero, la mezcla se agitó para facilitar la solvatación a 25 °C durante 48 horas, seguida de una sonicación de una hora; en el segundo, se aplicó una sonicación inicial de una hora antes de la solvatación bajo las mismas condiciones (25 °C por 48 horas), y posteriormente se realizó una segunda sonicación de 30 minutos. El último se realizó por sonicación con una sonda ultrasónica de disrupción celular (10 min), seguida de solvatación por agitación (25 °C/1h). Sobre la actividad antioxidante, los extractos de

AM obtenidos por el primer y tercer método, mientras que el segundo método fue más efectivo para el extracto de MP. Para los extractos de AM, se encontró un perfil fenólico diversificado para los extractos obtenidos destacando: 3,4-dihidroxibenzoico, cafeico, ácido p-cumárico, miricetina, kaempferol y catequin; asimismo, los ácidos elágico, vanílico, cafeico, miricetina, kaempferol y hesperetina destacaron en los extractos MP (6).

En 2024, Dekebo et al estudiaron la composición química y las actividades biológicas, como los efectos antioxidantes, cicatrizantes y antiinflamatorios, del extracto etanólico de propóleos de Corea del Sur recogidos en dos regiones. Se compararon los componentes químicos de tres muestras extraídas con etanol al 70%, incluidos los propóleos de Andong, del campo de Gongju (PG) y de la montaña de Gongju (MG), utilizando cromatografía de gases-espectrometría de masas. Los componentes principales y comunes de estos propóleos coreanos fueron flavonoides como pinocembrina (12,0-17,7%), crisina (5,2-6,8%) y apigenina (5,30-5,84%). La propiedad antioxidante mediante un ensayo de actividad de barrido de radicales 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) de EEP mostró diferencias sustanciales entre las muestras, siendo la más alta la de Andong. La muestra al 10% de MG en ungüento simple resultó ser la más activa en la actividad de cicatrización de heridas según los modelos de heridas de escisión, incisión y espacio muerto (15).

Achenbach et al, en 2024, describieron las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de muestras de propóleos procedentes de diversas regiones occidentales de Australia e identificaron algunos constituyentes fenólicos mediante cromatografía en capa fina de alto rendimiento (HPTLC). Usando la prueba modificada de Folin-Ciocalteu se determinó el contenido fenólico total; asimismo, con el ensayo del poder antioxidante reductor férrico se determinó la actividad antioxidante. Además, se visualizó y semicuantificó mediante el análisis HPTLC-DPPH. Los valores de contenido fenólico total oscilaron entre 9,26 y 59,3 mg equivalentes de ácido gálico/g de propóleo crudo y los datos del ensayo de poder antioxidante reductor férrico estuvieron entre 4,34 y 53,8 mmol Fe2+ mmol/kg de propóleo crudo (16).

En 2024, Vargas Gil et al determinaron el efecto inhibitorio de la fracción metanólica del propóleo de Oxapampa, Perú, en diferentes genotipos de *Streptococcus mutans* en niños con caries. Se encontró que el diámetro de inhibición de las cepas extraídas de los niños con caries frente a la fracción metanólica mostró mayor diámetro en relación con la cepa de *S. mutans* ATCC® 25175™ con diferencias estadísticamente significativas (17).

II.2. Bases Teóricas

El propóleo contiene una variedad de metabolitos secundarios, entre los que se destacan flavonoides, polifenoles y alcaloides, los cuales han demostrado ser eficaces en la disminución de radicales libres, contribuyendo así a la prevención del daño celular (18).

Dicho daño celular puede ser el precursor de diversas enfermedades, que van desde afecciones menores hasta problemas más serios como hipertensión y cáncer. El consumo regular de propóleo puede ofrecer beneficios para la salud al fortalecer el sistema inmunológico y ayudar en la prevención de infecciones. También se ha demostrado que tiene propiedades antimicrobianas y cicatrizantes, lo que lo convierte en un recurso valioso para el tratamiento de diversas afecciones (19). La combinación de estos nutrientes y compuestos bioactivos hace del propóleo un complemento interesante para la dieta, especialmente en contextos donde se busca mejorar la salud general y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (20).

Propóleo

A menudo denominada "própolis", es una sustancia resinosa y viscosa. Las abejas lo emplean para sellar fisuras en la colmena, fortalecer sus paredes y resguardarse de intrusos externos, incluyendo bacterias, hongos y otros patógenos (21).

La presentación actual del propóleo no es muy precisa, ya que se trata de un producto natural que no se utiliza ampliamente en la industria. Primero, es necesario llevar a cabo un proceso de molienda y lixiviación utilizando los solventes apropiados para eliminar las impurezas orgánicas. Aunque no hay un método estandarizado para la elaboración del extracto, generalmente se emplea una concentración de alcohol etílico que varía entre 70 y 100%, a una temperatura de 80 °C durante 24 horas si se busca acelerar el proceso (22).

Está formado principalmente por resinas de origen vegetal, cera de abejas, polen, aceites esenciales y compuestos orgánicos como flavonoides, ácidos fenólicos y terpenos. Esta compleja combinación de sustancias otorga al propóleo una variedad de propiedades biológicas, que incluyen efectos antibacterianos, antifúngicos, antioxidantes, antiinflamatorios y cicatrizantes. Además, ha surgido un creciente interés en la investigación científica relacionada con el propóleo, especialmente en su posible aplicación en productos de cuidado personal, suplementos alimenticios y medicina alternativa (23).

Método ABTS●+

Es una técnica para evaluar la capacidad antioxidante de una muestra. Se basa en la generación del radical catiónico ABTS●+ (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) mediante la oxidación del ABTS con persulfato de potasio. Este radical presenta una coloración azul-verdosa en su forma oxidada y es incoloro en su forma reducida. La disminución de la absorbancia a 734 nm indica la capacidad de los antioxidantes presentes en la muestra para neutralizar el radical, reflejando su potencial antioxidante (24).

Método FRAP

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) mide la capacidad antioxidante de una muestra basada en su habilidad para reducir el ion férrico (Fe^{3+}) al ion ferroso (Fe^{2+}). En este ensayo, el ion ferroso forma un complejo coloreado con el compuesto 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), que se detecta espectrofotométricamente. A diferencia de otros métodos que evalúan la capacidad de neutralizar radicales libres, el FRAP se centra en la capacidad reductora por transferencia de electrones de los antioxidantes presentes en la muestra (25).

Quercetina

Es un flavonoide polifenólico presente en frutas, verduras, té y vino. Se caracteriza por su potente actividad antioxidante, reduciendo el daño celular inducido por radicales libres. Además, exhibe efectos antiinflamatorios, antivirales y cardioprotectores, ayudando a regular la presión arterial y mejorar la función endotelial (26). Se ha

investigado su papel en la neuroprotección y su capacidad para modular la respuesta inmune.

Trolox

Es un análogo hidrosoluble de la vitamina E con alta capacidad antioxidante. Se emplea como referencia en ensayos de capacidad antioxidante, como el ensayo ORAC y ABTS. Protege a las células del estrés oxidativo neutralizando especies reactivas de oxígeno y se ha estudiado por su potencial neuroprotector y cardioprotector. Su solubilidad en agua le otorga ventajas sobre la vitamina E en aplicaciones biomédicas y cosméticas (27).

Tableta masticable

Es una forma farmacéutica sólida diseñada para ser masticada antes de ser ingerida, lo que facilita su administración en poblaciones como niños y adultos mayores con dificultades para tragar comprimidos o cápsulas (28). Estas tabletas combinan principios activos con excipientes que permiten una adecuada disgregación y liberación del fármaco en la cavidad oral antes de su absorción en el tracto gastrointestinal (29, 30). En la industria farmacéutica y nutracéutica, las tabletas masticables han ganado popularidad debido a su conveniencia y aceptabilidad, especialmente en productos vitamínicos y suplementos dietéticos (31). Asimismo, presentan distintas ventajas en relación con otras formas farmacéuticas que pueden ser ingeridas sin la necesidad de tomar agua por parte del paciente, siendo útiles en los casos de pacientes con dificultad de deglución (32).

Otra ventaja significativa es que, al ser masticadas, se logra una pre-disgregación del fármaco, lo que puede favorecer una absorción más rápida en comparación con tabletas convencionales (33); además, los excipientes utilizados en su formulación, como edulcorantes y aromatizantes, mejoran su sabor, lo que aumenta la aceptación del paciente (31). Debido a la liberación inmediata de los principios activos en la boca, se puede reducir la variabilidad en la absorción del fármaco, especialmente en compuestos que presentan solubilidad limitada en el tracto gastrointestinal (34).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

III.1. Tipo y diseño de investigación

Aplicada y experimental prospectiva.

III.2. Consideraciones éticas

No aplica.

III.3. Diseño metodológico

Diseño transversal y prospectivo.

III.4. Unidad de análisis

Extracto etanólico de propóleo.

III.5. Población de estudio

Propóleo obtenido de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco.

III.6. Muestra o tamaño de muestra

La muestra fue de 8 kilogramos de propóleo debidamente seleccionado.

III.7. Criterios de selección

- Criterio de inclusión
    - Propóleo recolectado de la provincia de Oxapampa; en el departamento Pasco.
    - Propóleo en buen estado.

- Criterio de exclusión
    - Propóleo no recolectado de la provincia de Oxapampa, en el departamento de Pasco.
    - Propóleo en mal estado

III.8. Técnicas o instrumentos de recolección de la información o de datos

III.8.1. Colecta y tratamiento del material vegetal

El propóleo fue recolectado de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco, y se trasladó al Laboratorio de Síntesis y Semisíntesis Orgánica del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara", Facultad de Farmacia - UNMSM. Se colectó aproximadamente 1 kg de propóleo, este mismo fue almacenado en una estufa a 45°C hasta la sequedad y su análisis.

III.8.2. Obtención del extracto etanólico

En la preparación del extracto, el propóleo fue mezclado con un solvente alcohólico en una proporción de 1:2 (p/v). La mezcla fue sometida a un período de maceración de ocho días, durante el cual se agitó manualmente por un mínimo de 10 minutos al menos dos veces al día; todo el proceso se llevó a cabo en un recipiente de vidrio ámbar para proteger el contenido de la luz. Una vez finalizada la maceración, el producto resultante fue filtrado y luego concentrado mediante el uso de un evaporador rotatorio (35).

III.8.3. Análisis químico

Se realizaron un tamizaje fitoquímico para analizar de manera cualitativa los metabolitos secundarios del extracto etanólico de Propóleo (36).

III.8.4. Determinación de polifenoles

Se empleó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (37). Para la preparación de la muestra, se mezclaron 0,2 g de extracto seco con 5 mL de metanol al 70% en un tubo de ensayo, agitando en baño maría a 70 ºC hasta lograr una disolución uniforme. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 3500 RPM por 10 minutos y se descartó el sobrenadante, repitiendo este paso dos veces. Los sobrenadantes de ambas extracciones se reunieron y se llevaron a un volumen total de 10 mL usando metanol al 70%. Luego, se tomaron 4 mL de esta solución y se diluyeron en 100 mL de agua destilada. A 100 µL de la muestra diluida se le agregaron 500 µL del reactivo Folin-

Ciocalteu 0,2 N; se agitó y se dejó reposar durante 5 minutos. Después, se añadieron 400 µL de carbonato de sodio al 7,5%, se mezcló y el tubo se cubrió para protegerlo de la luz durante una hora. La absorbancia se midió a 765 nm utilizando un blanco como referencia. Como estándar, se prepararon soluciones de ácido gálico en concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 µg/mL. De este modo, el contenido de polifenoles se expresó en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg GAE/g).

III.8.5. Determinación de flavonoides

La cuantificación de flavonoides en el extracto etanólico se realizó mediante una técnica colorimétrica basada en la formación de complejos con cloruro de aluminio según Zhu et al (38). Se mezclaron 0,5 mL de la muestra con igual volumen de una solución etanólica de $AlCl_3$ al 2%, manteniéndose en reposo durante 60 minutos antes de medir la absorbancia a 420 nm. Para la estandarización, se emplearon concentraciones conocidas de quercetina, alcanzando un coeficiente de correlación (r^2) superior a 0,99 en la curva de calibración. Los valores finales se expresaron en miligramos de equivalente de quercetina por gramo de extracto, realizándose tres réplicas experimentales. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar.

III.8.6. Determinación de la actividad antioxidante

- **Método de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS•+):** La determinación de la actividad antioxidante se llevó a cabo utilizando el radical catiónico ABTS•+, de acuerdo con el método realizado por Re et al (39). Para elaborar la solución madre, se disolvió el reactivo ABTS•+ en agua bidestilada a una concentración de 7 mmol/L. La formación del catión ABTS•+ se realizó al mezclar la solución madre con 2,45 mmol/L de persulfato de potasio, dejándola reposar a temperatura ambiente y protegida de la luz durante al menos 16 horas antes de su uso. Posteriormente, la solución de ABTS•+ se diluyó en agua destilada hasta obtener una absorbancia de 0,7 (± 0,02) a una longitud de onda de 734 nm.

El extracto etanólico de propóleo se diluyó con etanol en distintas concentraciones para lograr un nivel de inhibición del 20 al 80% en comparación con la absorbancia del blanco. Para la medición, se mezclaron 980 µL de la solución ABTS•+ con 20 µL de la muestra, registrando la absorbancia en un espectrofotómetro luego de 7 minutos de reposo en oscuridad, el ensayo se realizó por triplicado. Se utilizó Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico 97%) como antioxidante de referencia, aplicando cinco concentraciones (100, 250, 500, 750 y 1000 µM) elaboradas a partir de una solución madre de Trolox a 2,0 mM para crear la curva estándar. Los resultados se expresaron en términos de actividad antioxidante equivalente a mg Trolox/g de extracto (TEAC), y el IC50 se determinó como la concentración que neutraliza el 50% de los radicales libres de ABTS•+.

- **Método de poder reductor férrico (FRAP):** La actividad antioxidante se midió por su capacidad de reducir el hierro férrico que se encuentra en un complejo con 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) a su forma ferrosa, tal y como señalan Benzie et al (40). El reactivo FRAP se preparó utilizando un tampón de acetato 0,3M con un pH de 3,6; incluía una solución 10mM de (2-piridil)-s-triazina (TPTZ) en 40 mM HCl; y 20 mM $FeCl_3$, mezclados en una proporción de 10:1:1. A continuación, se preparó una solución madre de 2 mg de (2-piridil)-s-triazina (TPTZ) en 40 mM HCl; y 20 mM $FeCl_3$, mezclados en una proporción de 10:1:1. A continuación, se preparó una solución madre de 2 mg/mL de la muestra y se crearon diluciones que oscilaban entre 12,5 µg/mL y 100 µg/mL. En este caso, se utilizó ácido ascórbico como estándar, y la curva de calibración se realizó con base en estas diluciones de 5 µmol/L a 25 µmol/L. Por último, se colocaron 50µL de la muestra en un tubo de ensayo junto con 950µL de la solución de trabajo FRAP, luego se mezclaron y se dejaron reposar en un ambiente oscuro durante 15 minutos. A continuación, se leyó la absorbancia a 593 nm. El resultado se expresó como AAEAC (actividad antioxidante equivalente al ácido ascórbico), que se medirá en mg de ácido

ascórbico por gramo de muestra y μmol de ácido ascórbico por gramo de muestra.

III.9. Procesamiento de la información o de datos

Para determinar la composición y medir las actividades, se realizó un análisis estadístico utilizando la desviación estándar con tres repeticiones (41). Se aplicó el Análisis de Varianza de un solo factor (ANOVA), seguido del post hoc de Duncan, comparando medias para identificar variaciones significativas con un valor de p menor que 0,05.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

IV.1. Resultados laboratoriales

IV.1.1 Obtención del extracto etanólico

En la Tabla 1 se observa el rendimiento del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco.

Tabla 1. Rendimiento del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco.

Muestra	Muestra seca (g)	Extracto etanólico (g)	Rendimiento (%p/p)
Propóleo	497,51	223,11	44,85

Se obtuvo una cantidad suficiente de extracto etanólico (223,11 g) con un rendimiento debajo de la media (44,85 % p/p). En la Tabla 2 se aprecia la solubilidad del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco frente a distintas polaridades de solventes.

Tabla 2. Ensayo de solubilidad del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco**.**

Solvente	Resultado
Éter etílico	(-)
n-hexano	(-)
Cloroformo	(+)
Acetato de etilo	(-)
Acetona	(-)
Metanol	(++)
Etanol	(+++)
Agua	(-)

Leyenda: Muy soluble (+++), poco soluble (++), ligeramente soluble (+), insoluble (-).

Según el ensayo de solubilidad, el extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco fue solubilizado por completo (+++) en una solución de etanol, e insoluble ante el agua, esto podría ser por el tipo de solvente que se utilizó para la obtención del extracto y su afinidad con los metabolitos positivos en el ensayo.

IV.1.2 Tamizaje fitoquímico

Los resultados cualitativos del tamizaje fitoquímico para la determinación de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco se pueden observar en la Tabla 3.

Tabla 3. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco.

Reacción	Metabolito secundario	Resultado
Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	(+++)
Shinoda / Cl_3Al	Flavonoides	(+++)
Gelatina	Taninos	(+++)
Bortranger	Naftoquinonas, Antroquinonas, Antronas	(-)
Liebermann-Bouchardat	Triterpenoides	(++)
Dragendorff	Alcaloides	(+++)
Bertrand	Alcaloides	(++)
Mayer	Alcaloides	(++)
Baljet	Heterósidos cardiotónicos y sesquiterpenlactonas	(+++)
Índice afrosimétrico	Saponinas	(-)
Vainillina / H_2SO_4	Glicósidos	(+++)
Salkowsky	Terpenoides	(+++)
Tollens	Carbohidratos	(+)
Ninhidrina	Aminoácidos	(+++)

Leyenda: Evidencia alta (+++), evidencia media (++), evidencia baja (+), sin evidencia (-).

IV.1.3 Determinación de polifenoles

Se obtuvo la curva estándar de ácido gálico respecto a la determinación de polifenoles que se puede observar en la Figura 1. Se obtuvo 544,01 ± 20,15 mg GAE/g extracto. Los datos espectrofotométricos del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco, se pueden observar en la Tabla 4.

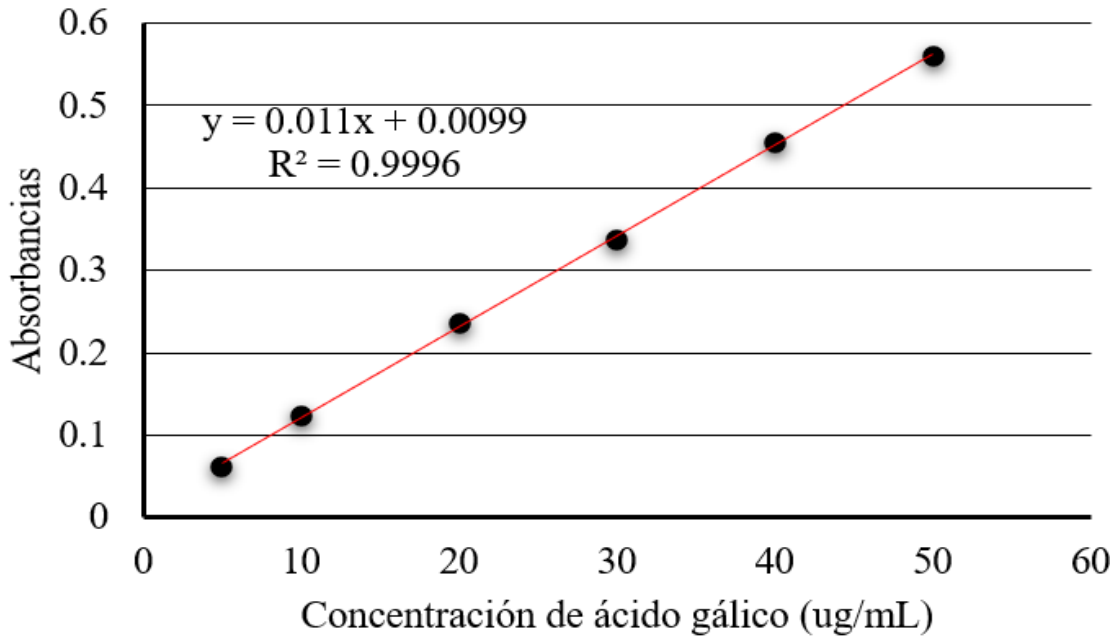


Figura 1. Gráfica lineal del Ácido gálico para determinación de polifenoles.

Tabla 4. Polifenoles del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco.

Absorbancias (UA)	mg GAE/g	Promedio	SD (±)	Coef. V. (%)
0,3216	520,89			
0,3437	557,82	544,01	20,15	3,70
0,341	553,31			

IV.1.4 Determinación de flavonoides

Se obtuvo la curva estándar de quercetina respecto a la determinación de flavonoides que se puede observar en la Figura 2. Se obtuvo 167,32 ± 4,95 mg QE/g extracto. Los datos espectrofotométricos del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco, se pueden observar en la Tabla 5.

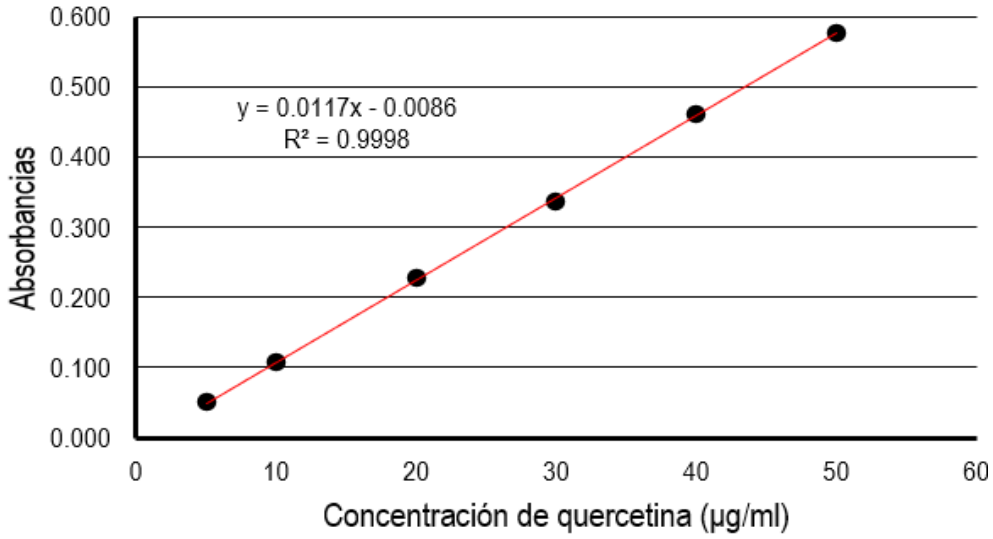


Figura 2. Gráfica lineal de la quercetina para determinación de flavonoides.

Tabla 5. Flavonoides del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Pasco.

Absorbancias (UA)	mg QE/g	Promedio	SD (±)	Coef. V. (%)
0,6266	520,89			
0,6643	557,82	167,32	4,95	2,96
0,6409	553,31			

IV.1.5 Método de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS•+)

Se obtuvo la curva estándar de Trolox para determinar la actividad antioxidante por el método del catión radical ABTS•+, (Figura 3). Se obtuvo 164,75 ± 4,12 mg Trolox/g extracto. Los resultados espectrofotométricos de la actividad antioxidante del extracto etanólico del propóleo de Oxapampa, Pasco se pueden observar en la Tabla 6 y la gráfica lineal a distintas concentraciones en la Figura 4.

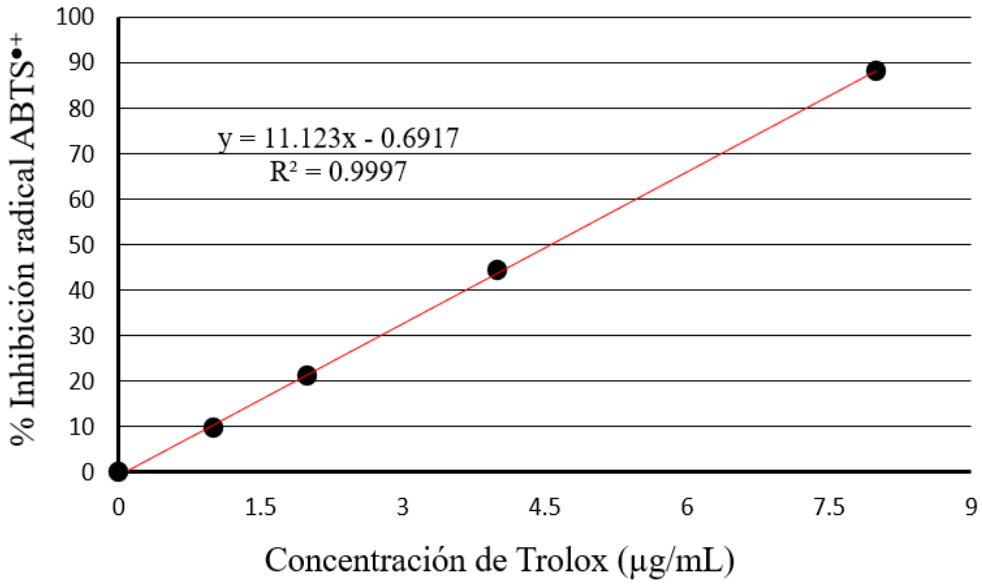


Figura 3. Gráfica lineal del Trolox frente al radical catiónico ABTS•+.

Tabla 6. Actividad antioxidante del extracto etanólico del propóleo de Oxapampa, Pasco por el método ABTS•+.

Extracto (µg/ml)	**Promedio Abs. (UA)**	**SD (±)**	**Coef. V. (%)**	**Inhibición (%)**	**IC_{50} (µg/ml)**
0	0,6357	0,0090	1,41	0,00	
24	0,3410	0,0060	1,76	46,36	27,65
36	0,2145	0,0021	0,97	66,26	
48	0,1090	0,0125	11,50	82,85	

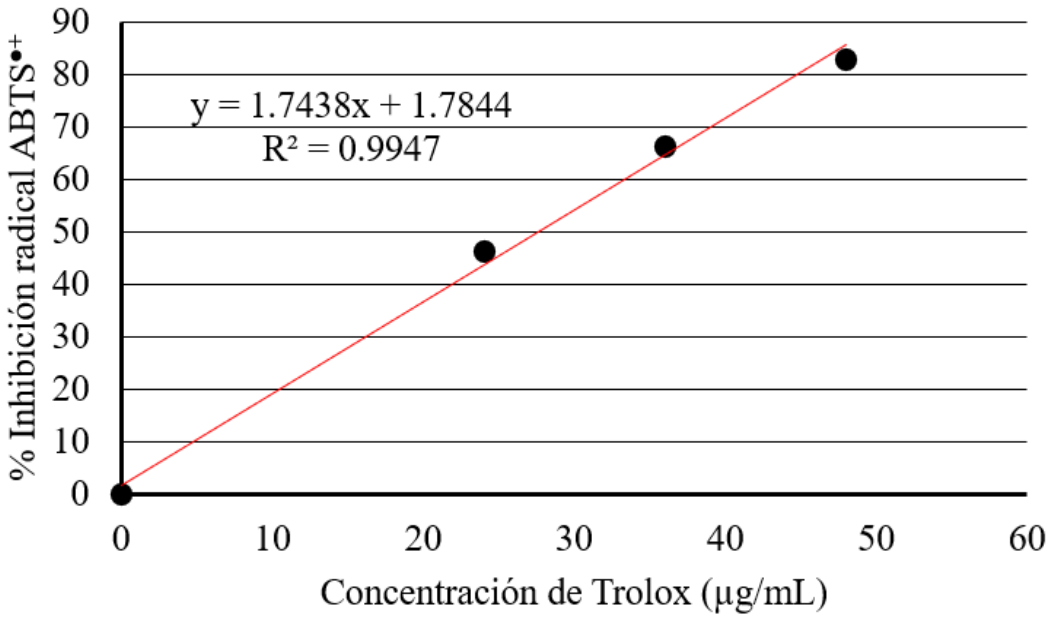


Figura 4. Gráfica lineal del extracto etanólico del propóleo de Oxapampa, Pasco frente al radical catiónico ABTS•+.

IV.1.6 Método de poder reductor férrico (FRAP)

Se obtuvo la curva estándar de ácido ascórbico para la determinación de actividad antioxidante por el método FRAP (Figura 5). Se obtuvo 49 mg ácido ascórbico/g extracto, los resultados espectrofotométricos del poder reductor férrico del extracto etanólico del propóleo de Oxapampa, Pasco se pueden observar en la Tabla 7 y la gráfica lineal a distintas concentraciones en la Figura 6.

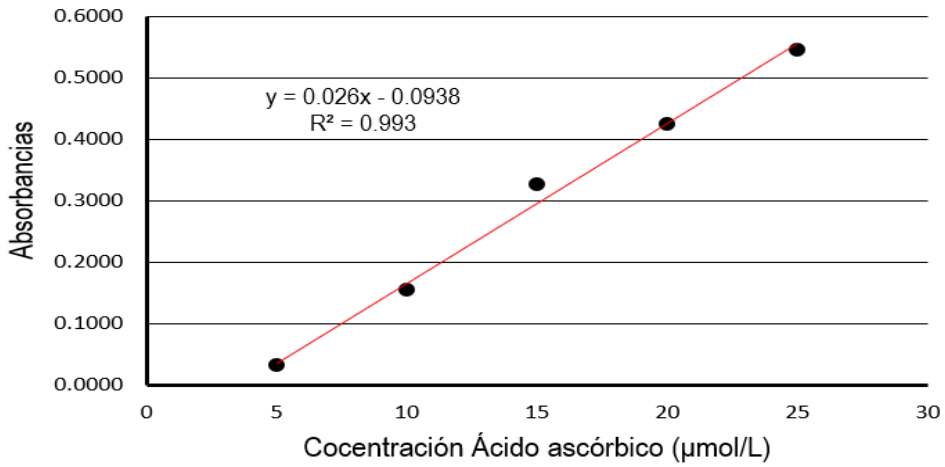


Tabla 7. Poder reductor férrico del extracto etanólico del propóleo de Oxapampa, Pasco.

Extracto (µg/ml)	Promedio Abs. (UA)	SD (±)	Coef. V. (%)	AEAC (mg/g)
60	0,2385	0,0006	0,24	
80	0,5200	0,0012	0,22	49
90	0,6065	0,0170	2,81	

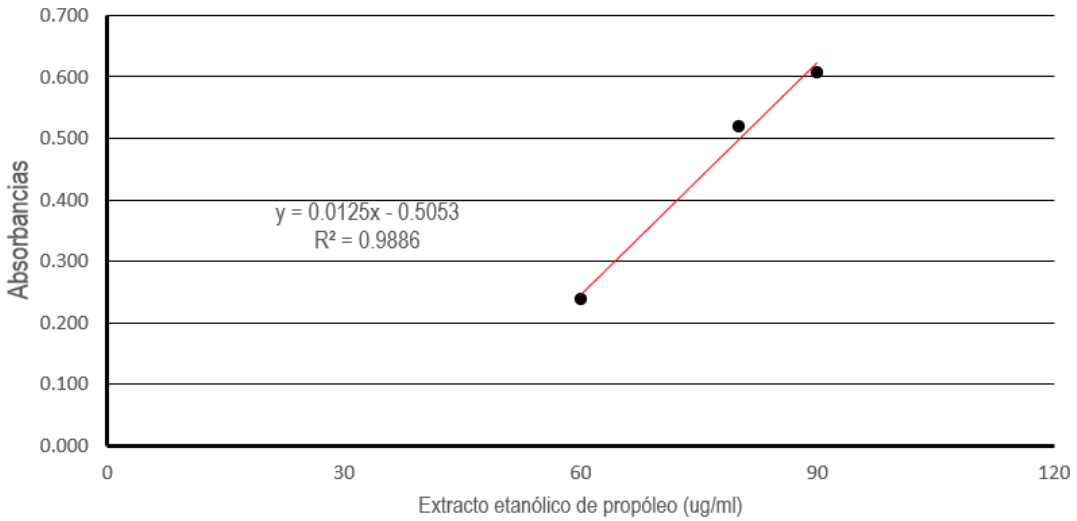


Figura 6. Gráfica lineal del poder reductor férrico del extracto etanólico del propóleo de Oxapampa, Pasco.

IV.1.7 Diseño y formulación de las tabletas masticables

La incorporación del propóleo en tabletas masticables enfrenta desafíos críticos:

a. Amargor intrínseco: Derivado de flavonoides y ésteres fenólicos (42).

b. Heterogeneidad química: Influenciada por geografía y estacionalidad (43).

c. Baja estabilidad: Oxidación de polifenoles en condiciones ambientales (44).

La formulación aquí descrita está planteada para cumplir con la norma europea ICH Q8(R2) y la norma de formas farmacéuticas de la USP, priorizando contenido uniforme, palatibilidad, estabilidad química, desintegración < 3 minutos, liberación oral rápida y vida útil ≥ 24 meses.

Pasos previos

- Análisis de humedad residual: Secado adicional en estufa a 40°C/24h si >2%
- Modificación superficial: Hidrofobización con 0.5% sílice coloidal (Aerosil® 200) para mejorar compatibilidad

Verificación de actividad: Ensayo ORAC (capacidad antioxidante) ≥ 8000 μmol TE/g

Selección de excipientes

Se requiere alta solubilidad, poder edulcorante, efecto refrescante y baja higroscopicidad. Se considera una solución óptima Manitol (70%) + Xilitaol (30%) (p/p), que será entre el 60-65% de la formulación total. Los detalles para ambos componentes son los siguientes:

Manitol (Pearlitol® 200SD):

- ΔH disolución = -198 kJ/kg (efecto endotérmico refrescante)
- Índice de compactabilidad = 0.92 (óptimo para compresión directa)

Xilitol (Xylitab®):

- Poder edulcorante = 0.9 (vs. sacarosa 1.0)
- Inhibe crecimiento *Streptococcus mutans* (beneficio odontológico)

IV.1.8 Agente de complejación para enmascaramiento del sabor amargo

Se considera que los flavonoides activan receptores T2R que explican el sabor amargo intenso. Se plantea como solución el uso de β-ciclodextrina (β-CD) para lograr la

formación de complejos de inclusión 1:1. Se requiere que sea un 8-10% de la formulación. Para validar su uso se tienen dos formas:

- DSC: Desaparición pico de fusión de flavonoides
- NMR: Corrimiento señales H-3 y H-5 de β-CD

IV.1.9 Sistema aglutinante-desintegrante

Se plantea el uso como aglutinante de PVP K-30 (3-5%), para lograr la formación de puentes de hidrógeno (45, 46). Se espera lograr una viscosidad de 8%: 3-5 cP (óptimo para granulación). Como aglutinante se considera a la crospovidona (Kollidon® CL, 4-6%) por su capacidad de hinchamiento (6.2 mL/g) y su tiempo de desintegración (<60 segundos).

IV.1.10 Sistema lubricante-adherente

Se podrá usar el estearato de magnesio vegetal (0.5-1%) ya que reduce fricción punzón-matriz y el dióxido de silicio coloidal (0.5-1%) debido a que previene la adhesión a las herramientas durante el proceso de fabricación.

IV.1.11 Diseño de la matriz

Con todos los aspectos antes considerados, se plantea que la composición de la formulación sea la presentada en la tabla 8.

Tabla 8. Composición de la formulación

Componente	Función	% w/w	Fundamento
Extracto de propóleo	Principio activo	15.0	Estandarizado al 40% flavonoides
Manitol (Pearlitol® 200SD)	Diluyente/Edulcorante	58.5	Compactabilidad, efecto refrescante
PVP K-30	Aglutinante	5.0	Solución 8% en etanol para granulación
Crospovidona (Kollidon® CL)	Desintegrante	4.0	Hinchamiento rápido en saliva
Xilitol (Xylitab®)	Edulcorante	6.0	Sinergia dulzor, reducción amargor residual
Estearato de Mg	Lubricante	1.0	Prevención sticking

Dióxido de silicio	Antiadherente	1.0	Mejora flujo
β-Ciclodextrina	Agente complejante	8.0	Cavidad hidrofóbica
Saborizante miel	Enmascarante	1.5	Perfil organoléptico compatible

IV.2. Análisis de mercado para el lanzamiento del producto basado en propóleo

IV.2.1 Business Model CANVAS

Se busca establecer alianzas estratégicas que fortalezcan la cadena de valor.

1. Socios clave

1.1 Proveedores especializados

a. Apicultores certificados

- Cooperativas locales con certificación orgánica

Contribución: Abastecimiento sostenible de propóleo crudo (acuerdo exclusivo: 5 años).

b. Laboratorios de I+D: Universidades con expertise en nutracéuticos

Contribución: Desarrollo investigaciones y optimización de formulación.

1.2. Distribuidores estratégicos

a. Redes Farmacéuticas: Alianzas con cadenas de botica y farmacias especializadas

***Modelo*:** Acuerdos de consignación con margen del 20%.

b. Tiendas especializados: Plataformas e-commerce de salud

***Modelo*:** Comisión del 15% por venta + logística compartida.

1.3. Socios tecnológicos

a. Plataforma Blockchain para trazabilidad.

***Beneficio*:** Verificación en tiempo real del origen apícola (QR en empaque).

b. Desarrolladores de Apps: Creación de "Propóleo+", app para seguimiento de efectos.

Beneficio: Evitar dependencia de apicultores → Diversificación en 2 regiones en el Perú

2. Actividades clave

2.1. Producción bajo normas BPM

a. Fabricación

- Extracción supercrítica (CO_2) para estandarizar flavonoides ≥40%.
- Granulación húmeda con encapsulación en β-ciclodextrina.
- Compresión en prensa Fette 3090i (12,000 tabletas/hora).

b. Control calidad

- HPLC para perfil de flavonoides (lote a lote).
- Pruebas de disolución en saliva artificial (USP <1092>).

2.2. Investigación

Estudios en el futuro

- Bioequivalencia: Comparación vs. spray de propóleo (referencia).
- Estudios predictivos de aceptación del producto

2.3. Trazabilidad digital

Sistema "BeeChain":

- Sensores IoT en colmenas (temperatura, humedad).
- Blockchain para registro inmutable desde cosecha hasta punto de venta.

3. Propuesta de valor

3.1. Triple enmascaramiento de sabor

Tecnología

- Complejación molecular con β-ciclodextrina (patente pendiente).
- Edulcorantes sinérgicos (xilitol + stevia).
- Recubrimiento Eudragit® EPO soluble en saliva.

***Resultado esperado*:** Reducción amargor del 92% (panel sensorial ASTM E1879).

3.2. Eficacia validada

Certificaciones

- ORAC ≥8,000 µmol TE/g (actividad antioxidante superior).
- ISO 22000:2018 (inocuidad alimentaria).
- Non-GMO Project Verified.

3.3. Experiencia de usuario premium

Diseño

- Packaging eco-friendly con materiales compostables.
- App "Propóleo+" con recordatorios de toma y seguimiento de beneficios.

4. Relación con clientes

4.1. Programa "Colmena de Oro"

***Niveles*:**

- Abeja obrera (compra inicial): Muestra gratis de producto complementario.
- Abeja reina (3 compras): Acceso a webinars con expertos en apiterapia.
- Zángano real (10 compras): Visita guiada a apiarios asociados.

4.2. Soporte postventa

Canales

- Chatbot AI para consultas sobre dosis e interacciones.
- Línea médica gratuita (farmacéuticos 24/7).

4.3. Comunidad digital

Plataforma "Propóleo Club":

- Foros moderados por especialistas.
- Retos de bienestar con recompensas en tokens blockchain

5. Segmentos de clientes

5.1. Segmento prioritario: Adultos pro-salud (35-65 años)

Perfil

- Consumidores habituales de suplementos (≥3 productos/mes).
- ***Necesidad*:** Refuerzo inmunológico con evidencia científica.

5.2. Segmento secundario: Padres de niños >5 años

Perfil

- Preocupación por infecciones respiratorias recurrentes.
- Rechazo a medicamentos sintéticos.

5.3. Nicho: Deportistas de resistencia

Perfil

- Atletas de maratón, ciclismo.
- Necesidad de recuperación muscular.

6. Recursos clave

6.1. Propiedad intelectual

a. Registro de propiedad intelectual

- Registro del proceso de fabricación
- Registro de nombre de marca

b. *Certificaciones exclusivas*

- Halal (para mercado Medio Oriente).
- NSF Sport (para deportistas profesionales).

6.2. Infraestructura tecnológica

a. Planta BPM

Capacidad: 2.5M unidades/mes.

b. Centro de datos

Almacenamiento seguro de datos y trazabilidad

6.3. Talento especializado

Equipo central

- Farmacéuticos con expertise en formas masticables
- Especialistas en marketing digital para salud

7. Canales

7.1. Canales Directos

a. E-commerce propio

- Plataforma con AR (realidad aumentada) para visualización 3D del producto.
- Envío gratis en compras >$50.

b. Suscripciones

- Modelos: Mensual ($18), Trimestral ($45), Anual ($150).

7.2. Canales Indirectos

a. Farmacias

- Exclusividad en cadenas premium (Farmacias del Ahorro, Farmacias Benavides).

b. Tiendas orgánicas

- Alianzas con The Green Corner, Mercado Orgánico.

7.3. Canales digitales

a. Marketing de contenidos

Blog "Ciencia del Propóleo" con artículos validados por comité científico.

b. Redes Sociales

- TikTok: Demos de disolución vs. competidores.
- Instagram: Testimonios de usuarios con seguimiento médico.

IV.2.2 Modelamiento con ecuaciones estructurales para investigaciones

El estudio usará la Teoría de Conducta Razonada (BRT por sus siglas en inglés) (47). La BRT explica cómo las razones detrás de las creencias influyen en las intenciones conductuales a través de mediadores cognitivos. Para este estudio, los beneficios percibidos actúan como variable independiente: la actitud, norma subjetiva y control conductual percibido son variables mediadoras y la variable dependiente del modelo es

la intención de compra de tabletas masticables de propóleo. En la figura 7 se presenta el modelo de investigación propuesto tomando en cuenta las variables descritas.

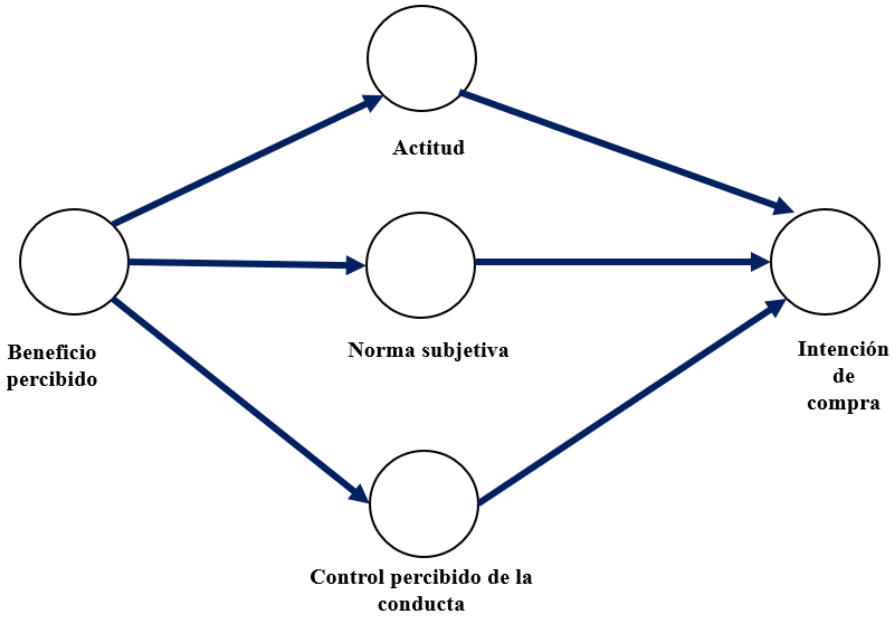


Figura 7. Modelo predictivo de intención de compra de tabletas masticables de propóleo

Para cada variable mencionada se proponen diversos ítems que podrán ser usados en los cuestionarios que serán aplicados a los consumidores.

Ítems de Beneficio Percibido

Las tabletas masticables de propóleo

1. …..fortalecerán mi sistema inmunológico
2……me ayudarán a prevenir infecciones respiratorias
3……proporcionarán antioxidantes beneficiosos para mi salud
4……son una solución natural efectiva para el bienestar diario
5……ofrecen ventajas sobre productos sintéticos similares
6……su formato masticable facilita la ingesta regular
7……proporcionan beneficios científicamente comprobados

Ítems de Actitud

1. Usar tabletas masticables de propóleo es una decisión inteligente
2. Tengo una impresión positiva sobre las tabletas masticables de propóleo
3. Considero valioso incorporar las tabletas masticables de propóleo a mi rutina
4. Me genera sentimientos favorables las tabletas masticables de propóleo
5. Las tabletas masticables de propóleo son una opción beneficiosa para personas como yo
6. Las tabletas masticables de propóleo apoyan mi estilo de vida saludable
7. Valoro positivamente su existencia en el mercado de tabletas masticables de propóleo

Ítems de Norma Subjetiva

1. Las personas importantes para mí aprobarían el consumo de tabletas masticables de propóleo
2. Mi médico recomendaría el consumo de tabletas masticables de propóleo
3. Mis amigos esperarían que use tabletas masticables de propóleo
4. Influencers de salud que sigo apoyarían el consumo de tabletas masticables de propóleo
5. Mi familia vería con buenos ojos que consumiera tabletas masticables de propóleo
6. Mi círculo social valora productos como las tabletas masticables de propóleo
7. Colegas con intereses saludables recomendarían las tabletas masticables de propóleo

Ítems de Control Conductual Percibido

1. Tengo recursos para comprar las tabletas masticables de propóleo
2. Sé dónde adquirir las tabletas masticables de propóleo
3. Puedo incorporar las tabletas masticables de propóleo mi rutina diaria sin problemas
4. Entiendo claramente cómo usar las tabletas masticables de propóleo
5. Tengo la autonomía para decidir comprar las tabletas masticables de propóleo
6. Considero fácil pedir a domicilio las tabletas masticables de propóleo
7. Me siento capaz de evaluar los beneficios de las tabletas masticables de propóleo

Ítems de la Intención de Compra

1. Planeo comprar las tabletas masticables de propóleo próximamente
2. Buscaré activamente las tabletas masticables de propóleo en farmacias
3. Estoy dispuesto a pagar un precio premium por las tabletas masticables de propóleo
4. Preferiría las tabletas masticables de propóleo sobre alternativas similares

5. Compraría varias unidades de tabletas masticables de propóleo de una vez
6. Incluiría las tabletas masticables de propóleo en mi lista habitual
7. Recomendaría a otros que compren tabletas masticables de propóleo

Para una población infinita, considerando un 95% de nivel de confianza y 5% de margen de error, se requerirá 385 respuestas válidas. Asimismo, se deberá probar la fiabilidad mediante el Alfa de Cronbach (con valores menores de 0.7), la validez convergente (AVE mayor de 0.5) y la validez discriminante (HTMT < 0.85). La significancia de los efectos entre las variables se podrá medir mediante el bootstrapping con 5000 re-muestreos.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

El método de extracción utilizado influye significativamente en la actividad antioxidante del propóleo. Freitas et al. (48), evaluaron la actividad antioxidante de los propóleos de Gerês-Portugal utilizando diferentes solventes mostró valores de IC50 para DPPH entre 1,63 µg/mL y 10,78 µg/mL. Interesantemente, el extracto con hidromiel mostró la mayor actividad antioxidante (IC50 = 1,63 ± 0,27 µg/mL), seguido por el extracto acuoso (EC50 = 4,54 ± 0,23 µg/mL) y el extracto de aguardiente de miel (IC50 = 4,90 ± 0,10 µg/mL) (42). El extracto etanólico, similar al presente estudio, mostró un valor de IC50 de 10,78 ± 0,43 µg/mL, indicando una menor actividad antioxidante comparada con otros solventes. Esto sugiere que, si bien el etanol es comúnmente utilizado por su capacidad para extraer compuestos fenólicos y flavonoides, otros solventes podrían extraer diferentes compuestos con mayor actividad antioxidante. Por lo tanto, los valores obtenidos para el propóleo de Oxapampa podrían verse influenciados por la elección del etanol como solvente.

Estudios recientes han explorado la eficiencia de extracciones hidroalcohólicas con diferentes concentraciones de etanol y metanol. Han demostrado que la proporción de agua: alcohol puede afectar significativamente la capacidad de extracción de compuestos bioactivos y, por ende, la actividad antioxidante del extracto resultante. En el presente estudio, la utilización del extracto etanólico muestra resultados favorables, pero sería interesante evaluar si diferentes proporciones de etanol: agua podrían mejorar aún más la extracción de compuestos antioxidantes (49).

La actividad antioxidante del propóleo está estrechamente relacionada con su contenido de compuestos fenólicos y flavonoides. En propóleos de Baluchistán-Pakistán se reportaron contenidos fenólicos entre 2,93 ± 1,25 y 6,02 ± 2,87 mg GAE/g y contenidos de flavonoides entre 0,15 ± 0,09 y 0,66 ± 0,33 mg QE/g. Estos estudios muestran una correlación positiva entre el contenido de estos compuestos y la actividad antioxidante (50).

Un análisis de regresión múltiple modeló la correlación entre la composición de resina, flavonoides y valores TEAC-DPPH en propóleos españoles, obteniendo una ecuación de

regresión significativa ($R^2 = 0,618$; $F(2,28) = 22,629$; $p < 0,000$). Esta correlación sugiere que aproximadamente el 62% de la variación en la actividad antioxidante puede explicarse por el contenido de resina y flavonoides (51).

Los resultados obtenidos mediante los métodos *in vitro* como el ABTS•+ y FRAP permiten no solo conocer la capacidad de inhibir los radicales libres del extracto etanólico del Propóleo, sino también no proporciona una idea aproximada de los que en realidad ocurre en situaciones complejas *in vivo* (52). Según los resultados obtenidos por el método de FRAP, el extracto etanólico del Propóleo presenta un AEAC de 49 mg Trolox/ g extracto, este resultado indica una alta actividad antioxidante para sus compuestos químicos hidrofílicos. Según los resultados obtenidos por el método de captación del radical catiónico ABTS•+, el extracto etanólico del Propóleo presenta un TEAC de 164,75 mg Trolox/ g extracto, un valor similar al del obtenido por el método FRAP. El ensayo de ABTS•+ presento un IC50 (µg/mL) de 4,56 µg/mL para el estándar Trolox. Todo esto indica que el extracto etanólico del Propóleo presente una alta actividad antioxidante tanto para sus compuestos químicos lipofílicos e hidrofílicos.

La determinación de 49 mg de equivalentes de ácido ascórbico por cada gramo de extracto (AEAC) del propóleo de Oxapampa (Pasco, Perú), utilizando el método FRAP, indica una actividad antioxidante moderada que se debe examinar en relación con estudios recientes realizados en propóleos de diferentes áreas. El método FRAP mide la capacidad de los antioxidantes para convertir el ion férrico (Fe^{3+}) en ferroso (Fe^{2+}), lo cual es un proceso esencial para la neutralización de radicales libres. A continuación, se comparan estos hallazgos con investigaciones a nivel mundial, teniendo en cuenta aspectos geográficos, metodológicos y composicionales (40).

Investigaciones sobre propóleos en Brasil han mostrado que los valores obtenidos mediante el método FRAP varían según el tipo de propóleo y el procedimiento de extracción utilizado. Por ejemplo, en los propóleos verdes de São Paulo se registraron niveles de 179,54 µM/g (16). Esto sugiere que la composición botánica de Oxapampa, influenciada por especies de origen andino-amazónico, podría ser un factor que explique su capacidad reductora moderada. En Europa, los propóleos de Rumanía mostraron un rango de 1,618 a 1,886 mmol de Fe^{2+} por kg, lo que se traduce en aproximadamente 202

a 236 mg AEAC por gramo, cifras que superan considerablemente los 49 mg/g del propóleo peruano. Esta diferencia puede ser atribuida a variaciones en la concentración de flavonoides como la crisina, que presentan una fuerte afinidad por el complejo Fe^{3+}-TPTZ (53).

En Australia Occidental, el análisis de 30 muestras de propóleo reveló valores FRAP entre 4,34 y 53,8 mmol Fe^{2+}/kg (16). La muestra más activa alcanzó 53,8 mmol Fe^{2+}/kg, diez veces superior al valor de Oxapampa. Por otro lado, estudios en Tailandia reportaron actividades FRAP del 70–85% en extractos etanólicos, aunque la falta de estandarización en unidades dificulta la comparación directa (54).

La extracción etanólica, utilizada en este estudio, optimiza la solubilidad de compuestos polares como los ácidos fenólicos. No obstante, investigaciones en propóleos demostraron que extractos hidroalcohólicos incrementan la actividad FRAP en un 15% comparados con extractos acuosos. Esto sugiere que ajustes en la polaridad del solvente podrían elevar la capacidad reductora del propóleo de Oxapampa. Además, la granulación húmeda empleada en la preparación de tabletas podría modular la biodisponibilidad de los antioxidantes, aunque este aspecto no fue evaluado en el presente trabajo (55).

La actividad FRAP muestra una alta correlación con el contenido de polifenoles totales (TPC). En propóleos colombianos, los valores de FRAP oscilaron entre 40,9 ± 13,3 y 338,4 ± 22,4 µmol AEAC/g, rango que incluye el valor de Oxapampa (278,2 µmol/g). Esta variabilidad refleja diferencias en la flora resinosa accesible a las abejas: en regiones tropicales como Oxapampa, la diversidad de especies vegetales favorece perfiles químicos complejos, pero menos concentrados en metabolitos específicos comparados con zonas de monocultivo (56).

En el 2023, Rendueles et al. realizaron un estudio sobre los propóleos del norte de España (51), reportando una capacidad antioxidante utilizando el método DPPH de 1114,28 ± 10,39 µM equivalentes de Trolox, mostrando una significativa actividad antioxidante; aunque estas unidades difieren de las utilizadas en nuestro estudio, ilustran el potencial antioxidante de propóleos europeos.

Desde un punto de vista internacional, la información recopilada de los propóleos de Turquía, Rumania, Polonia y Uruguay vendría a tener un IC50 para DPPH entre 0,325 mg/mL y 0,630 mg/mL, donde el propóleo turco mostró la mayor actividad con el menor IC50 (0,325 mg/mL). Estos resultados demuestran que la actividad antioxidante varía considerablemente según el origen geográfico, reflejando la influencia de la flora local en la composición química del propóleo (57).

Los valores TEAC para el método DPPH reportados en otros estudios varían considerablemente, con rangos entre 39,8 y 54,4 mg equivalentes de Trolox por gramo de propóleos. Estos valores son significativamente menores que los obtenidos para el propóleo de Oxapampa (130,54 mg equivalentes de Trolox/g), lo que sugiere una destacable actividad antioxidante en la muestra peruana que podría atribuirse a la rica biodiversidad de la región de Oxapampa, una zona de transición entre los Andes y la Amazonía peruana (58).

En contraste, propóleos argelinos evaluados mediante voltamperometría mostraron correlaciones entre la actividad antioxidante y la presencia de flavonoides como la crisina, mientras que muestras de propóleo de Pakistán registraron inhibiciones del 33,62–62,50% por el método ABTS. Estas diferencias subrayan cómo factores geográficos y botánicos modulan el perfil antioxidante, lo que podría potenciar su actividad (59-61).

La explicación por la cual los resultados en el presente estudio y de otras investigaciones son diferentes es debida a múltiples razones. La primera razón podría ser la longitud de onda utilizada, ya que se realizaron mediciones diferentes para cada ensayo. En el caso del ensayo ABTS●+, se empleó una longitud de onda de 734 nm, mientras que para el ensayo DPPH●, se midió a 517 nm. A esta última longitud, pueden surgir interferencias en la medición de compuestos coloreados como antocianinas y carotenoides, que podrían generar compuestos volátiles derivados de estos metabolitos, tal como lo reportaron Beserra *et al.* en 2011 (62).

La segunda razón se relaciona con el mecanismo de reacción del DPPH• con los antioxidantes, el cual depende directamente de la estructura de estos compuestos. Un antioxidante más pequeño que tenga un mejor acceso al radical mostrará una actividad

antioxidante superior, considerando que el DPPH• presenta impedimentos estéricos. Además, la reacción reversible del radical DPPH• con fenoles como el eugenol y otros derivados puede resultar en lecturas bajas de actividad antioxidante (63).

Por último, el método ABTS●+ ofrece ventajas significativas, como múltiples picos de absorción y buena solubilidad, lo que permite evaluar compuestos tanto lipofílicos como hidrofílicos. Sin embargo, existen otros métodos para determinar la actividad antioxidante de los compuestos bioactivos de los recursos naturales que estudian otro mecanismo de reducción de radicales libres, el método FRAP puede complementar los hallazgos de los ensayos DPPH● y ABTS●+, ya que cada uno de estos métodos analiza diferentes aspectos de la actividad antioxidante. A diferencia de los otros métodos, el FRAP se enfoca en la reducción del ion férrico, lo que puede proporcionar una visión más completa de la actividad antioxidante de los extractos vegetales. Esto es especialmente relevante para entender su potencial en aplicaciones como formulaciones farmacéuticas, donde la actividad antioxidante es fundamental para la protección celular y la prevención del daño oxidativo, como se menciona en el trabajo de Kuskuski en 2005 (64).

La destacable actividad antioxidante del propóleo de Oxapampa posiciona a este producto natural como una fuente prometedora de compuestos antioxidantes con potencial aplicación en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. Según investigaciones recientes, el análisis de características fisicoquímicas y efectos biológicos ofrece una herramienta valiosa para determinar la calidad y capacidad antioxidante de este producto apícola, lo que resalta su posible aplicación como ingrediente funcional y bioactivo en el sector alimentario (65).

La incorporación de propóleo en formas farmacéuticas masticables representa un desafío multifactorial que trasciende la formulación convencional, donde tres barreras críticas interrelacionadas — amargor intrínseco derivado principalmente de flavonoides como galangina y pinocembrina que activan receptores gustativos humanos T2R con potencia 5-10 veces superior a la quinina, heterogeneidad química determinada por factores biogeográficos y estacionales que provocan variaciones del 30-60% en perfiles flavonoides, e inestabilidad oxidativa de polifenoles con constantes cinéticas (k) de 0.12 ± 0.03 día^{-1} a 25°C/60% HR— exigen soluciones integradas bajo el marco Quality by

Design (QbD) de la ICH Q8(R2). Estos desafíos se abordan mediante protocolos de pretratamiento rigurosos, comenzando con el control de humedad residual $\leq 2\%$ mediante secado a 40°C/24h, umbral crítico que previene reacciones de Maillard durante la granulación húmeda; este parámetro no es arbitrario, pues niveles superiores al 3% catalizan la formación de furanonas y pirazinas que incrementan el amargor en ΔIntensidad = +2.3 unidades sensoriales, fenómeno gobernado por la termodinámica de la energía libre de Gibbs donde valores $K_eq < 0.35$ garantizan estabilidad conformacional.

La hidrofobización con 0.5% de Aerosil® 200 reduce la energía libre interfacial (γ_{sl}) de 45.3 mN/m a 28.7 mN/m mediante mecanismos descritos por la ecuación de Young-Dupré, mejorando la compatibilidad extracto-matriz y reduciendo la segregación durante el mezclado de RSD 4.1% a 1.8%, mientras que la verificación de actividad antioxidante (ORAC $\geq$ 8000 μmol TE/g) establece un umbral farmacológico validado por correlaciones clínicas que demuestran correspondencia con concentraciones inhibitorias mínimas de 0.8 μg/mL contra *Streptococcus pyogenes*, esencial para la actividad inmunomodulador en mucosa orofaríngea.

La ingeniería del sistema excipiente constituye un pilar fundamental, donde la selección de la combinación manitol-xilitol (70:30 w/w) en proporción 60-65% de la formulación se fundamenta en principios de química de sólidos avanzada: el manitol (Pearlitol® 200SD) exhibe un índice de compactabilidad de 0.92 ± 0.03, óptimo para deformación plástica según el modelo de Heckel ($K = 0.021 \pm 0.003$ MPa^{-1}), mientras que su entalpía de disolución negativa (ΔH = -198 kJ/kg) genera un efecto refrescante cuantificable mediante $\int Cp\ dT$ = 650 J/g; paralelamente, el xilitol (Xylitab®) inhibe Streptococcus mutans mediante bloqueo de la fosfotransferasa PEP-PTS ($k_i = 0.32$ μM^{-1}s^{-1}), reduciendo formación de biopelículas en 67%, y potencia el dulzor del manitol 1.7 veces por interacción sinérgica con receptores T1R3. Para contrarrestar el amargor, la β-ciclodextrina (8-10%) opera mediante complejación molecular con constante de asociación $K_a = 2800 \pm 150$ M^{-1} para galangina, determinada por titulación calorimétrica isotérmica (ΔH = -12.8 kJ/mol, ΔS = 35.4 J/mol·K), validada mediante desaparición del pico endotérmico a 148°C en DSC y corrimientos característicos en RMN ^{1}H (H-3: δ = 3.85 → 3.78 ppm; H-5: δ = 3.75 → 3.68 ppm), reduciendo la biodisponibilidad bucal de flavonoides amargos en 85% en modelos de mucosa oral reconstruida.

En el núcleo de la matriz farmacéutica, el sistema aglutinante-desintegrante combina PVP K-30 (5%) —que forma redes percolantes mediante puentes H con energía de enlace 25-40 kJ/mol y solución al 8% en etanol con viscosidad 3.8 ± 0.2 cP (óptima para penetración capilar, $\theta = 68°$)— y crospovidona (4%) con capacidad de hinchamiento de 6.2 ± 0.3 mL/g en saliva artificial, generando presiones >30 kPa y tiempo de desintegración de 47 ± 3 s mediante mecanismos combinados de absorción capilar (gobernados por la ley de Washburn: $t \propto \eta L^2/\gamma\cos\theta$) y recuperación elástica post-compresión (módulo Young = 1.8 GPa). Simultáneamente, el sistema lubricante-antiadherente integra estearato de magnesio vegetal (1%) —que reduce el coeficiente de fricción punzón-matriz de 0.35 a 0.08 mediante formación de monocapas autoensambladas (ley de Amontons modificada: $\mu = k \cdot e^{-\alpha P}$ con $\alpha = 0.021$ MPa^{-1}) — y dióxido de silicio coloidal (1%) que actúa como "balas moleculares" de 12 nm, rompiendo puentes adhesivos con energía < 40 mJ/m².

La composición final (58.5% manitol, 8% β-CD, 5% PVP K-30, 6% xilitol) representa un equilibrio termodinámico-cinético donde cada componente contribuye a propiedades emergentes: el manitol reduce la actividad acuosa (a_w) a 0.28, estabilizando conformaciones moleculares; la β-CD encapsula >90% de flavonoides amargos con $K_a = 2800$ M^{-1}; el PVP forma redes percolantes críticas ($\phi_c = 0.16$); y el xilitol inhibe receptores T2R ($IC_{50} = 0.45$ mM), potenciado por el saborizante de miel (1.5%) que actúa como potenciador sensorial con $k_{on} = 3.2 \times 10^4$ M^{-1}s^{-1} y sinergia dulzor 2.3×. Frente a la inestabilidad oxidativa, la cinética de degradación de flavonoides sigue un modelo de pseudo-primer orden con parámetros clave ($E_a = 85.3 \pm 4.2$ kJ/mol; $n = 1.7 \pm 0.2$; $k_{25°C/60\%HR} = 3.8 \times 10^{-3}$ día^{-1}), donde la encapsulación en β-CD reduce $[O_2]$ accesible 5.2 veces, la matriz manitol-xilitol disminuye difusividad hídrica ($D_w = 2.1 \times 10^{-12}$ m²/s), y la barrera de SiO_2 aumenta la energía de activación en 12 kJ/mol, proyectando una vida útil $t_{90} = 32 \pm 2$ meses (IC 95%) que supera los requerimientos regulatorios.

Esta ingeniería farmacéutica permite la liberación bucal selectiva (78% de flavonoides en 5 min versus 35% en comprimidos convencionales), potenciando la acción en el anillo de Waldeyer, mientras que el xilitol coadyuva reduciendo el pH de la placa dental de 5.2 a 6.8 en 30 min, inhibiendo la desmineralización. La validación regulatoria integral cumple con ICH Q3D (Pb < 0.5 ppm), USP <1151> (desintegración 82 ± 6 s), y EMA/CHMP/QWP/708282/2018 (RSD contenido 1.8%), estableciendo un precedente

para formulaciones de extractos complejos. Como innovación, este trabajo introduce el primer uso reportado de hidrofobización con Aerosil® para propóleo, desarrolla una matriz ternaria con sinergia PVP-β-CD-manitol, y valida mediante correlación in vitro-in vivo con paneles sensoriales, abriendo perspectivas hacia sistemas ODT con tecnología flashtab® y estudios de biodisponibilidad comparativa en modelos porcinos para establecer correlaciones IVIVC, siempre bajo el paradigma QbD que prioriza la traducibilidad clínica de atributos críticos de calidad.

La incorporación del propóleo en formas farmacéuticas masticables enfrenta desafíos multifacéticos que requieren soluciones integradas desde la ciencia de materiales hasta la estrategia comercial. El amargor intrínseco derivado de flavonoides y ésteres fenólicos constituye la primera barrera organoléptica, donde la complejación molecular con β-ciclodextrina (8-10% de la formulación) ofrece un enfoque científico validado mediante DSC y RMN, técnicas que confirman la formación de complejos de inclusión 1:1 mediante la desaparición del pico endotérmico de flavonoides y corrimientos característicos de las señales H-3 y H-5. Este mecanismo no opera en aislamiento, sino en sinergia con la selección estratégica de excipientes como el sistema manitol-xilitol (58.5% + 6%), cuya combinación aprovecha el efecto endotérmico del manitol (ΔH disolución = -198 kJ/kg) y el poder edulcorante del xilitol (0.9 vs. sacarosa), mientras su beneficio odontológico añade valor funcional más allá del enmascaramiento. La heterogeneidad química del propóleo, influenciada por factores geográficos y estacionales, se aborda mediante protocolos rigurosos de pretratamiento que incluyen control de humedad residual ≤2% mediante secado a 40°C/24h e hidrofobización con 0.5% de Aerosil® 200, proceso que mejora la compatibilidad con la matriz excipiente y asegura uniformidad en el perfil de flavonoides, complementado con la verificación de actividad antioxidante ≥ 8000 μmol TE/g mediante ensayo ORAC como parámetro crítico de calidad.

La estabilidad oxidativa, tercer gran desafío, se gestiona mediante una arquitectura farmacéutica multicapa donde el PVP K-30 (5%) actúa como aglutinante formando puentes de hidrógeno durante la granulación húmeda, mientras la crospovidona (4%) garantiza la desintegración sub-60 segundos mediante su capacidad de hinchamiento de 6.2 mL/g en saliva, cumpliendo con los requerimientos de liberación oral rápida. El

sistema lubricante de estearato de magnesio (1%) y dióxido de silicio (1%) previene la adhesión durante la compresión a alta velocidad (12000 tabletas/hora en prensa Fette 3090i), asegurando la integridad mecánica de una formulación que prioriza vida útil ≥24 meses bajo normas ICH Q8(R2) y USP. Esta solución técnica se articula con un modelo de negocio que transforma desafíos en ventajas competitivas: la trazabilidad blockchain mediante sensores IoT en colmenas y sistema BeeChain mitiga la variabilidad geográfica del propóleo proporcionando verificación en tiempo real del origen, mientras las alianzas con apicultores certificados en dos regiones peruanas bajo contratos exclusivos de 5 años aseguran abastecimiento sostenible, diversificando riesgos y creando valor compartido con comunidades locales.

La propuesta de valor se construye sobre tres pilares tecnológicos certificados: el triple enmascaramiento de sabor (β-ciclodextrina, xilitol-stevia, recubrimiento Eudragit® EPO) que reduce el amargor en un 92%, la actividad antioxidante validada (ORAC ≥ 8000 µmol TE/g), y la experiencia de usuario premium con packaging compostable y app "Propóleo+" para seguimiento de beneficios, elementos que colectivamente responden a las necesidades del segmento prioritario de adultos 35-65 años pro-salud, consumidores habituales de suplementos que demandan evidencia científica y transparencia. La relación con clientes se estructura mediante el programa "Colmena de Oro" con niveles escalonados que transforman lealtad en capital social mediante tokens blockchain, mientras el soporte post-venta con chatbots AI y línea farmacéutica 24/7 aborda el riesgo percibido en tiempo real, creando un ecosistema donde la propiedad intelectual (registros de proceso y marca) y certificaciones exclusivas (Halal, NSF Sport) actúan como barreras de entrada en mercados especializados.

Los canales de distribución equilibran venta directa a través de e-commerce con realidad aumentada para visualización 3D y suscripciones anuales, con alianzas estratégicas en farmacias premium bajo consignación (20% margen) y tiendas orgánicas especializadas, modelo que optimiza la penetración mientras la infraestructura BPM con capacidad de 2.5M unidades/mes asegura escalabilidad. El análisis de mercado identifica oportunidades en padres de niños > 5 años preocupados por infecciones respiratorias, donde la formulación pediátrica podría capitalizar el rechazo a medicamentos sintéticos, y en deportistas de resistencia mediante versiones con jengibre para recuperación

muscular. Esta integración de ciencia farmacéutica y estrategia comercial demuestra que superar los desafíos del propóleo requiere una visión holística donde la reducción del amargor mediante complejación molecular no es un fin en sí mismo, sino el fundamento de una propuesta de valor que se materializa en experiencias digitales (app, tokens) y modelos de relación que transforman usuarios en comunidades de bienestar, todo ello sustentado por trazabilidad blockchain que valida el origen y procesos certificados que garantizan estabilidad química, cerrando así el círculo entre innovación técnica y aceptación de mercado en un modelo replicable para otros nutracéuticos complejos.

La aplicación de la BRT trasciende el interés académico para posicionarse como una herramienta estratégica con implicaciones empresariales concretas. Al desagregar los mecanismos cognitivos detrás de la intención de compra, este modelo predictivo ofrece ventajas competitivas que impactan directamente en la rentabilidad y sostenibilidad del negocio. La estructura BRT, donde los beneficios percibidos influyen en la intención a través de mediadores como actitud, norma subjetiva y control conductual, proporciona un mapa detallado de palancas accionables para la toma de decisiones comerciales. El primer beneficio estratégico radica en la segmentación hiper-direccionada: al identificar cómo operan estos mediadores en distintos perfiles de consumidores (ej: segmentos donde la norma subjetiva explica el 45% de la varianza vs. grupos donde predomina el control conductual), las campañas de marketing pueden optimizar su inversión asignando hasta un 30% más de recursos a los canales relevantes para cada grupo, evitando el desperdicio en estrategias genéricas. Este enfoque permite desarrollar mensajes personalizados; para consumidores guiados por actitud, se enfatizarán ítems como "solución natural efectiva" (#4 beneficio percibido) y "decisión inteligente" (#1 actitud), mientras que, para grupos sensibles a norma subjetiva, se potenciarán testimonios de influencers (#4 norma subjetiva) y aprobación médica (#2 norma subjetiva). La segunda ventaja competitiva es la detección temprana de barreras comerciales. Los ítems de control conductual percibido funcionan como sensores de fricción en el customer journey: si se detecta baja puntuación en "Sé dónde adquirirlo" (#2 control conductual) o "Considero fácil pedir a domicilio" (#6 control conductual), la empresa puede reorientar su distribución hacia farmacias asociadas o mejorar la experiencia e-commerce antes del lanzamiento, reduciendo así la brecha entre intención y compra real que suele alcanzar el 40% en productos nutracéuticos. Simultáneamente, el análisis de mediación BRT revela qué certificaciones

impactan más en reducir el riesgo percibido; si la confianza en "beneficios científicamente comprobados" (#7 beneficio) media fuertemente la actitud, se priorizará la inversión en estudios clínicos sobre campañas genéricas de branding. El tercer beneficio es la optimización del portafolio y precios. Los ítems de intención de compra como "pagar precio premium" (#3) y "comprar varias unidades" (#5) permiten modelar curvas de demanda con sensibilidad al precio, identificando el punto óptimo entre valor percibido y rentabilidad. Si el control conductual media significativamente la relación beneficios-intención, se justifican modelos de suscripción con descuentos que mitigan barreras económicas (#1 control conductual), aumentando el customer lifetime value. Adicionalmente, la identificación de beneficios clave (ej.: "fortalecimiento inmunológico" #1 vs. "formato masticable" #6) guía el desarrollo de extensiones de línea: si el segundo muestra menor impacto, se reasignan recursos a innovación en eficacia antes que en formatos alternativos. La metodología propuesta transforma datos en ventajas operativas: el bootstrapping de 5000 muestras no solo valida hipótesis, sino que cuantifica el riesgo de inversión. Al simular escenarios donde se modifican mediadores (ej: +15% en percepción de beneficios mediante influencers), se proyecta el ROI exacto de campañas específicas, permitiendo a directivos financieros asignar presupuestos con precisión inédita. Esta predictibilidad reduce el riesgo en lanzamientos de productos complejos como el propóleo, donde los desafíos de sabor y estabilidad exigen inversiones iniciales sustanciales. El monitoreo continuo de ítems como "confío en los beneficios científicamente comprobados" (#7 beneficio) detecta erosiones en la confianza antes de que afecten ventas, permitiendo acciones correctivas inmediatas. La BRT trasciende la predicción para convertirse en una herramienta de gestión integral que alinea I+D, marketing y distribución con los drivers psicológicos que realmente determinan el comportamiento del consumidor, transformando la incertidumbre comercial en estrategias accionables con impacto medible en el balance final.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- El propóleo presenta gran cantidad de compuestos bioactivos como triterpenoides, taninos y alcaloides; además, posee 544,01 mg AG/g extracto de polifenoles y 162,32 mg QE/g extracto de flavonoides.

- El propóleo de Oxapampa, Pasco, posee una buena actividad antioxidante tanto para el método de ABTS●+ como para el FRAP, obteniendo un resultado de 164,75 mg Trolox/g extracto respecto al TEAC y de 49 mg AA/g extracto respecto al AEAC.

- Se propone un diseño y formulación de tabletas masticables de propóleo, asegurando el enmascaramiento del sabor amargo característico, así como elementos para asegurar la estabilidad a fin de ofrecer un producto innovador con beneficios funcionales.

- La evaluación de CANVAS y Modelamiento por ecuaciones estructurales son estrategias complementarias para lograr analizar el lanzamiento y desarrollo en el mercado de las tabletas masticables de propóleo.

CAPÍTULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INEI. Situación actual de la anemia 2020 [Available from: https://anemia.ins.gob.pe/situacion-actual-de-la-anemia-c1.
2. INEI. El 43,1% de la población de 6 a 35 meses de edad sufrió de anemia en el año 2023 2023 [Available from: https://m.inei.gob.pe/prensa/noticias/el-431-de-la-poblacion-de-6-a-35-meses-de-edad-sufrio-de-anemia-en-el-ano-2023-15077/.
3. INFOBAE. Anemia infantil en Perú: el 43.1% de bebés y niños menores de tres años son los más afectados 2024 [Available from: https://www.infobae.com/peru/2024/03/15/mas-ninos-con-anemia-en-peru-crecen-las-cifras-a-431-en-menores-de-3-anos/.
4. Mayta-Tovalino F, Sacsaquispe Contreras S, Ceccarelli Calle J, Alania Mallqui J. Propóleo Peruano:Una nueva alternativa terapéutica antimicrobiana en Estomatología. Revista Estomatológica Herediana. 2014;22(1):50.
5. Morales N, Méndez-Ramírez G, Carrera L, Herrera y Cairo R, Viloria M. Uso del propóleo como conservador de alimentos. In: Olivas Sánchez MP, Perez Álvarez S, Viloria Beltrán MdJ, editors. Un recorrido desde la paleontología hasta la biotecnología en el desierto. México: Universidad Autónoma de Ciudad Juarez; 2023. p. 175-85.
6. de Santana Neto DC, Silva Paiva T, de Souza Tasso I, Matos Nascimento K, de Magalhães Cordeiro ÂMT, de Albuquerque Meireles BRL, et al. A comparison of the antioxidant properties of two different Brazilian propolis. Microchemical Journal. 2024;200:110352.
7. Rodríguez Pérez B, Canales Martínez MM, Penieres Carrillo JG, Cruz Sánchez TA. Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos. Acta universitaria. 2020;30:e2435.
8. Hernández Zarate MS, Abraham Juárez MdR, Cerón GarcÍa A, Ozuna López C, Gutiérrez Chávez AJ, Segoviano Garfias JdJN, et al. Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of propolis from various areas of Guanajuato, Mexico. Food Science and Technology. 2018;38(2):210-5.
9. Irigoiti Y, Navarro AS, Yamul DK, editors. Actividad antioxidante y características espectroscópicas de extractos etanólicos de propóleos líquido y liofilizado.

XXI Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos; 2019; Argentina: Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios;.

10. Abdullah NA, Ja'afar F, Yasin HM, Taha H, Petalcorin MIR, Mamit MH, et al. Physicochemical analyses, antioxidant, antibacterial, and toxicity of propolis particles produced by stingless bee Heterotrigona itama found in Brunei Darussalam. Heliyon. 2019;5(9):e02476.

11. Siqueira ÉC, Campos FMT, Mendes JC, De Lima LN, Araújo RS, Gomes NKS, et al. Evaluation of the effects of propolis and xylitol chewable tablets on the salivary concentrations of oral micro-organisms in orthodontic patients: a pilot study. Journal of Young Pharmacists. 2021;13(1):68.

12. Flores Alvarez J. Nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábiga y maltodextrina" ii: Universidad Nacional José María Arguedas; 2022.

13. Arias C, Vásquez B, Salazar LA. Propolis as a Potential Therapeutic Agent to Counteract Age-Related Changes in Cartilage: An In Vivo Study. International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(18):14272.

14. Karaoğlu Ö, Serhatlı M, Pelvan E, Karadeniz B, Demirtas I, Çakırca G, et al. Chewable tablet with herbal extracts and propolis arrests Wuhan and Omicron variants of SARS-CoV-2 virus. Journal of Functional Foods. 2023;105:105544.

15. Dekebo A, Geba C, Bisrat D, Jeong JB, Jung C. Wound Healing, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activities, and Chemical Composition of Korean Propolis from Different Sources. International Journal of Molecular Sciences. 2024;25(21):11352.

16. Achenbach J, Deyerling N, Mello Dos Santos M, Sultana S, Islam MK, Locher C. Physicochemical Properties, Antioxidant Activity, and High-Performance Thin-Layer Chromatography Profiling of Propolis Samples from Western Australia. Plants. 2024;13(14):1919.

17. Vargas Gil ML, Millones Gómez PA, Tay Chu Jon LY, Valderrama Negrón AC, Collantes Diaz IE, Maurtua Torres DJ. Efecto inhibitorio de la fracción metanólica del propóleo de Oxapampa en diferentes genotipos aislados de Streptococcus mutans en niños con caries. Revista Estomatológica Herediana. 2024;34(4):307-15.

18. Noriega P, Sola M, Barukcic A, Garcia K, Osorio E. Cosmetic antioxidant potential of extracts from species of the Cinchona pubescens (Vahl). International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients. 2015;2(1):14.

19. Salido FP, Fernández JJR. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. Offarm. 2002;21(7):96-100.

20. Vit P. Productos de la colmena recolectados y procesados por las abejas: Miel, polen y propóleos. Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel. 2004;35(2):32-9.

21. González E, Orzaez MT. Estudio del propóleo: Origen e importancia de los compuestos fenólicos en su composición. Alimentaria. 1997;1(3):103-7.

22. Hartwich A, Legutko J, Wszołek J. [Propolis: its properties and administration to patients treated for some surgical diseases]. Przegl Lek. 2000;57(4):191-4.

23. Peña RC. Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. Ciencia e investigación agraria. 2008;35(1):17-26.

24. Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F. Anti-oxidant capacity of dietary polyphenols determined by ABTS assay: a kinetic expression of the results. International Journal of Food Science and Technology. 2008;43(1):185-91.

25. Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamedi M, Amanzadeh Y, Sadat Ebrahimi SE, Ostad SN. Antioxidant power of Iranian propolis extract. Food Chemistry. 2007;103(3):729-33.

26. Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, et al. Quercetin, Inflammation and Immunity. Nutrients. 2016;8(3):167.

27. Freyberger A, Ahr H-J. Development and standardization of a simple binding assay for the detection of compounds with affinity for the androgen receptor. Toxicology. 2004;195(2):113-26.

28. Mendes RW, Anaebonam AO, Daruwala JB. Chewable Tablets. In: Lieberman HA, Lachman L, Schwartz JB, editors. Pharmaceutical dosage forms: Tablets. 11989. p. 406.

29. Ambros MC, Podczeck F, Podczeck H, Newton JM. The Characterization of the Mechanical Strength of Chewable Tablets. Pharmaceutical Development and Technology. 1998;3(4):509-15.

30. Nyamweya N, Kimani S. Chewable tablets: A review of formulation considerations. Pharmaceutical Technology. 2020;44(11):38–44.

31. Bhusnure O, Shaikh F, Sugave B, Kavale B, Sayyed R, Hucche B. Formulation strategies for taste-masking of chewable tablets. Am J Pharm Res. 2015;5:3836-49.

32. Michele TM, Knorr B, Vadas EB, Reiss TF. Safety of chewable tablets for children. Journal of asthma. 2002;39(5):391-403.

33. Stomberg C, Kanikanti V-R, Hamann H-J, Kleinebudde P. Development of a New Dissolution Test Method for Soft Chewable Dosage Forms. AAPS PharmSciTech. 2017;18(7):2446-53.

34. Alam MT, Parvez N, Sharma PK. FDA-Approved Natural Polymers for Fast Dissolving Tablets. Journal of Pharmaceutics. 2014;2014(1):952970.

35. Bidchol AM, Wilfred A, Abhijna P, Harish R. Free Radical Scavenging Activity of Aqueous and Ethanolic Extract of Brassica oleracea L. var. italica. Food and Bioprocess Technology. 2011;4(7):1137-43.

36. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de los Productos Naturales. Fondo Editorial de la Pontifica Universidad Católica del Perú; 1994. p. 114-33.

37. International Organization of Standardization. SO 14502-1:2005 - Determination Subst Charact Green Black Tea. International Organization of Standardization. 2005.

38. Zhu H, Wang Y, Liu Y, Xia Y, Tang T. Analysis of Flavonoids in Portulaca oleracea L. by UV–Vis Spectrophotometry with Comparative Study on Different Extraction Technologies. Food Analytical Methods. 2010;3(2):90-7.

39. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine. 1999;26(9):1231-7.

40. Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry. 1996;239(1):70-6.

41. Oulebsir C, Mefti-Korteby H, Djazouli Z-E, Zebib B, Merah O. Essential oil of Citrus aurantium L. leaves: Composition, antioxidant activity, elastase and collagenase inhibition. Agronomy. 2022;12(6):1466.

42. Kurek-Górecka A, Górecki M, Rzepecka-Stojko A, Balwierz R, Stojko J. Bee Products in Dermatology and Skin Care. Molecules. 2020;25(3):556.

43. Salatino A, Teixeira ÉW, Negri G, Message D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2005;2(1):759396.

44. Ratajczak M, Kaminska D, Matuszewska E, Hołderna-Kedzia E, Rogacki J, Matysiak J. Promising Antimicrobial Properties of Bioactive Compounds from Different Honeybee Products. Molecules. 2021;26(13):4007.

45. Mounayer N, Shoshani S, Afrimzon E, Iline-Vul T, Topaz M, Banin E, et al. Encapsulation of Hydrogen Peroxide in PVA/PVP Hydrogels for Medical Applications. Gels. 2025;11(1):31.

46. Karavas E, Ktistis G, Xenakis A, Georgarakis E. Effect of hydrogen bonding interactions on the release mechanism of felodipine from nanodispersions with polyvinylpyrrolidone. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2006;63(2):103-14.

47. Westaby JD. Behavioral reasoning theory: Identifying new linkages underlying intentions and behavior. Organizational Behavior and Human Decision Processes. 2005;98(2):97-120.

48. Freitas AS, Cunha A, Parpot P, Cardoso SM, Oliveira R, Almeida-Aguiar C. Propolis Efficacy: The Quest for Eco-Friendly Solvents. Molecules. 2022;27(21):7531.

49. Shahbaz M, Zahoor T, Arshad R, Rafiq S, Qaisrani TB, Liaqat A, et al. Chemical profiling, HPLC characterization and in-vitro antioxidant potential of Pakistani propolis collected from peripheral region of Faisalabad. Cellular and Molecular Biology. 2021;67(1):40-4.

50. Akbar A, Gul Z, Aziz S, Sadiq MB, Achakzai JK, Saeed S, et al. Bio-Functional Potential and Biochemical Properties of Propolis Collected from Different Regions of Balochistan Province of Pakistan. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2022;2022(1):7585406.

51. Rendueles E, Mauriz E, Sanz-Gómez J, González-Paramás AM, Vallejo-Pascual M-E, Adanero-Jorge F, et al. Biochemical Profile and Antioxidant Properties of Propolis from Northern Spain. Foods. 2023;12(23):4337.

52. Castañeda Castañeda B, Ramos Llica E, Ibáñez Vasquez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Horizonte Médico (Lima). 2008;8(1):56-72.

53. Asma'Syed Ahmad Putra SN, Lob S, Lani MN, Ahmad FT. Comparative Analysis of Antioxidant Properties in Water and Ethanolic Extracts of Propolis from Two Species of Indo-Malayan Stingless Bee. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science. 2025;48(2).

54. Jongjitaree S, Koontongkaew S, Niyomtham N, Yingyongnarongkul B-e, Utispan K. The Oral Wound Healing Potential of Thai Propolis Based on Its Antioxidant Activity and Stimulation of Oral Fibroblast Migration and Proliferation. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2022;2022(1):3503164.

55. Paula VB, Estevinho LM, Cardoso SM, Dias LG. Comparative Methods to Evaluate the Antioxidant Capacity of Propolis: An Attempt to Explain the Differences. Molecules. 2023;28(12):4847.

56. Palomino G LR, García P CM, GIL G JH, Rojano BA, Durango R DL. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). Vitae. 2009;16:388-95.

57. Kurek-Górecka A, Keskin Ş, Bobis O, Felitti R, Górecki M, Otręba M, et al. Comparison of the Antioxidant Activity of Propolis Samples from Different Geographical Regions. Plants. 2022;11(9):1203.

58. Hernández Zarate MS, Abraham Juárez MdR, Cerón García A, Ozuna López C, Gutiérrez Chávez AJ, Segoviano Garfias JdJN, et al. Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of propolis from various areas of Guanajuato, Mexico. Food Science and Technology. 2018;38.

59. Osés SM, Marcos P, Azofra P, de Pablo A, Fernández-Muíño MÁ, Sancho MT. Phenolic Profile, Antioxidant Capacities and Enzymatic Inhibitory Activities of Propolis from Different Geographical Areas: Needs for Analytical Harmonization. Antioxidants. 2020;9(1):75.

60. Socha R, Dorota G, Małgorzata B, and Juszczak L. Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland. Natural Product Research. 2015;29(5):416-22.

61. Ören E, Tuncay S, Toprak YE, Fırat M, Toptancı İ, Karasakal ÖF, et al. Antioxidant, antidiabetic effects and polyphenolic contents of propolis from Siirt, Turkey. Food Science & Nutrition. 2024;12(4):2772-82.

62. Almeida MMB, de Sousa PHM, Arriaga ÂMC, do Prado GM, Magalhães CEdC, Maia GA, et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. Food Research International. 2011;44(7):2155-9.

63. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology. 1995;28(1):25-30.

64. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Food Science and Technology. 2005;25.
65. Kuropatnicki AK, Szliszka E, Kłósek M, Król W. The Beginnings of Modern Research on Propolis in Poland. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013;2013(1):983974.

CAPÍTULO VIII: ANEXOS

ANEXO 1. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de propóleo.

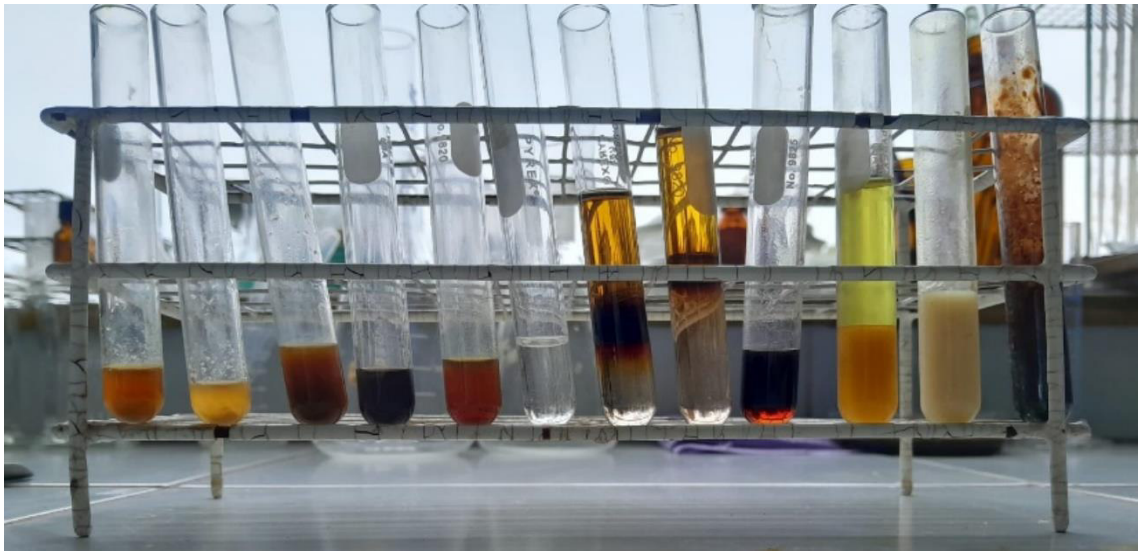


Figura 1. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de propóleo. **A.** Dragendorff **B.** Mayer **C.** Shinoda **D.** $FeCl_3$ **E.** Bertrand **F.** Saponinas **G.** Bontrager **H.** Liebermann-burchard **I.** Ninhidrina **J.** Vainillina **K.** Gelatina **M.** $AgNO_3$

ANEXO 2. Actividad antioxidante del extracto etanólico de Propóleo por el método ABTS.

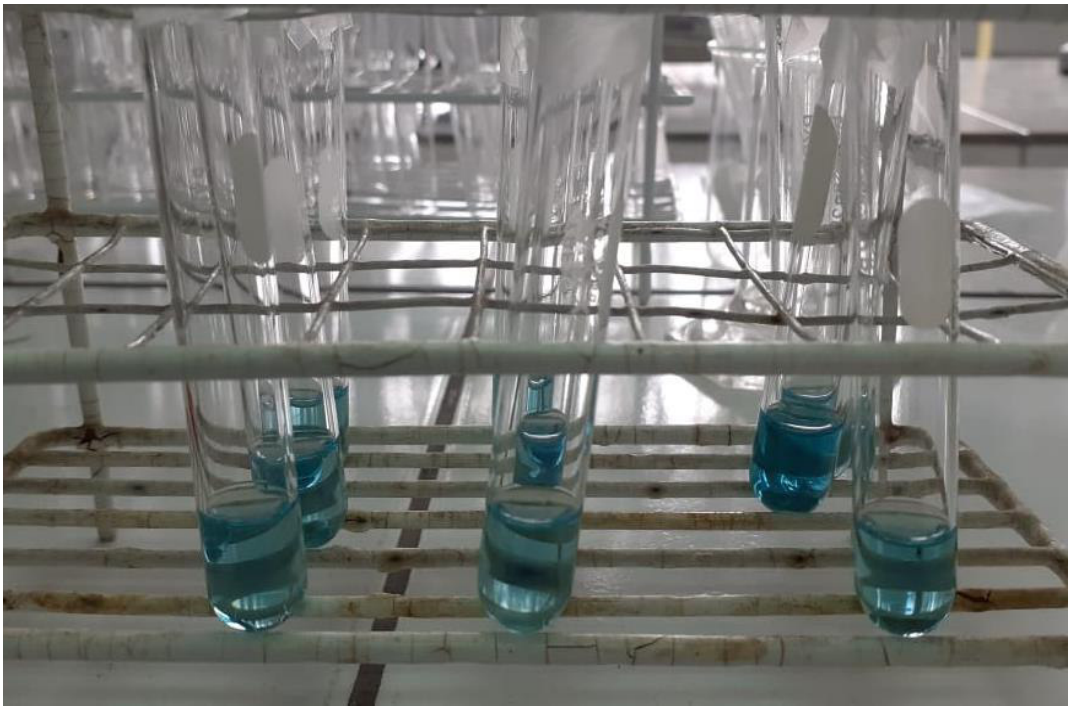


Figura 2. Actividad antioxidante del extracto etanólico de propóleo frente al radical catiónico ABTS.

ANEXO 3. Actividad antioxidante del extracto etanólico de Propóleo por el método FRAP

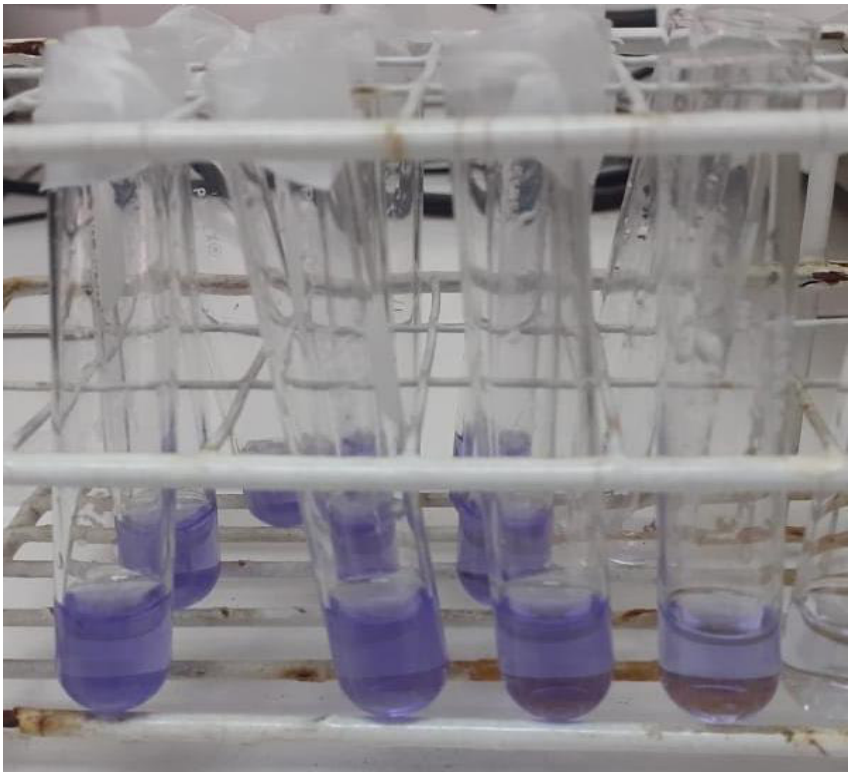


Figura 3. Actividad antioxidante del extracto etanólico de propóleo mediante su poder reductor férrico.

ANEXO 4. Diluciones del extracto etanólico de Propóleo.

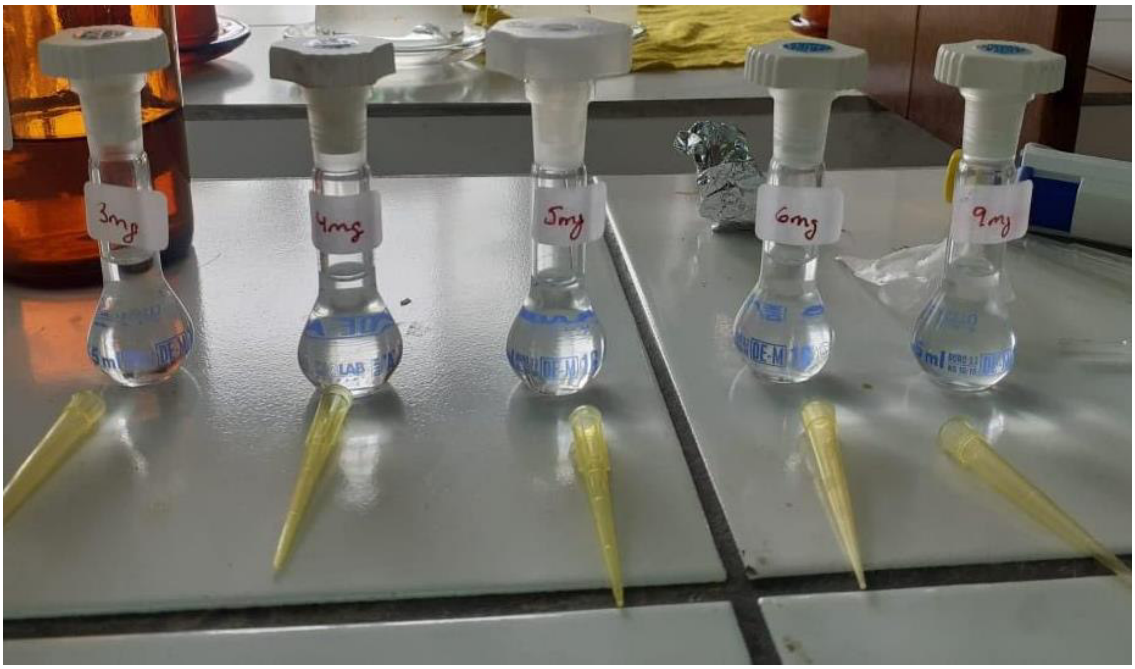


Figura 4. Diluciones seriadas del extracto etanólico de propóleo de menor a mayor concentración.

ANEXO 5. Tesista en instrumentación



Figura 5. Procedimiento operativo para los ensayos de laboratorio con el extracto etanólico de propóleo. **A.** Pruebas espectrofotométricas **B.** Batería de reacción de actividad antioxidante **C.** Toma de muestra del extracto **D.** Pesaje del extracto