

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del
extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx*
Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

**Presentado por:
Bach. VICUÑA GAMARRA, Zarina Jessica**

**AYACUCHO – PERÚ
2015**

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N° 077 – 2015 – UNSCH – FCB - D

Bach.: VICUÑA GAMARRA, Zarina Jessica


En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde con veinte minutos, del día dieciséis de abril del año dos mil quince, en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, reunidos los miembros del jurado evaluador, siendo el Sr. Decano Dr. Homero Anjo Aguilar quien la preside, y la complementan los profesores Mg. José Manuel Diez Macavilca, Edgar Cárdenas Landeo, Maricela López Sierralta como miembros y el Mg. Marco Rolando Aronés Jara en calidad de Asesor, actuando como secretario docente el Blgo. Elbert Hermoza Valdivia, con la finalidad de recepcionar en acto público la sustentación de Tesis titulada Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña”. Ayacucho - 2012, presentada por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Srta. VICUÑA GAMARRA, Zarina Jessica; con la que pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica. Una vez comprobada la documentación presentada y estando esta conforme, el Sr. Decano autoriza que la Srta. sustentante pueda iniciar su exposición en un tiempo no mayor a cuarenta minutos, a su vez da a conocer algunos alcances acerca del acto.

A continuación la sustentante da inicio a su exposición en forma clara, cumpliendo con las indicaciones efectuadas previa a su exposición. Concluida la exposición el Sr. Decano invita a los miembros del jurado para que puedan hacer sus preguntas, y pedir las aclaraciones que vean por conveniente, a las mismas que la Srta. sustentante da respuesta. Al terminar este punto el Sr. Decano invita a los asistentes y sustentante puedan hacer abandono del local con la finalidad de efectuar las discusiones y calificación respectiva de lo que queda el siguiente puntaje:

| Miembro Jurado | Exposición | Rpta. a Preguntas | Promedio |
|--------------------------------|-------------------|--------------------------|-----------------|
| Dr. Homero ANGO AGUILAR | 17 | 17 | 17 |
| Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA | 20 | 20 | 20 |
| Mg. Edgar CÁRDENAS LANDEO | 18 | 18 | 18 |
| Q.F. Maricela LOPEZ SIERRALTA | 18 | 16 | 17 |
| Mg. Marco Rolando ARONÉS JARA | 18 | 18 | 18 |
| | | Promedio | 18 |

A ello se desprende que ha obtenido la nota de Dieciocho (18) que es Aprobatoria, de inmediato se invita a la sustentante y público asistente puedan ingresar al Auditorio con la finalidad de dar a conocer la calificación en forma pública, del mismo toma el juramento de Ley e impone la medalla que acredita como nueva profesional Químico Farmacéutica.

El acto de sustentación culmina siendo las cinco y cuarentaicinco y en fe de lo cual, los miembros del jurado firman al pie del presente.



Dr. Homero ANGO AGUILAR
Presidente – Decano



Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA
Miembro



Mg. Edgar CÁRDENAS LANDEO
Miembro



Q.F. Maricela LOPEZ SIERRALTA
Miembro



Mg. Marco Rolando ARONÉS JARA
Asesor



Blgo. Elbert HERMOZA VALDIVIA
Sec. Docente

A mis padres, Carlos y Aparicia por la fe y confianza que siempre me han brindado e impulsaron a superar contratiempos y peldaños para alcanzar mis más preciadas metas.

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater* la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga forjador de excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y en especial al "Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos".

A los docentes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional.

A mi asesor Mg. Q.F. Marco Rolando Aronés Jara por su constante asesoramiento y apoyo en la realización del presente trabajo.

A todas las personas que me apoyaron desinteresadamente en la culminación del presente trabajo.

ÍNDICE

| | Pág. |
|--------------------------------------|-------------|
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTO | iii |
| ÍNDICE GENERAL | iv |
| ÍNDICE DE TABLAS | v |
| ÍNDICE DE FIGURAS | vi |
| ÍNDICES DE ANEXOS | vii |
| RESUMEN | ix |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. MARCO TEÓRICO | 3 |
| 2.1. Antecedentes | 3 |
| 2.2. Aspectos botánicos | 4 |
| 2.3. Compuestos fenólicos | 6 |
| 2.4. Radicales libres | 8 |
| 2.5. Estrés oxidativo | 8 |
| 2.6. Antioxidantes | 9 |
| 2.7. Cremas | 9 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 11 |
| 3.1. Ubicación | 11 |
| 3.2. Materiales | 11 |
| 3.3. Métodos de recolección de datos | 11 |
| 3.4. Análisis estadístico | 18 |
| IV. RESULTADOS | 19 |
| V. DISCUSIÓN | 29 |
| VI. CONCLUSIONES | 33 |
| VII. RECOMENDACIONES | 35 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 37 |
| ANEXOS | |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|---|------|
| Tabla 1. Clasificación de los antioxidantes | 9 |
| Tabla 2. Fórmula de las cremas | 15 |
| Tabla 3. Escala de índice de irritabilidad dérmica primaria | 17 |
| Tabla 4. Principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012. | 20 |
| Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012. | 21 |
| Tabla 6. Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling. "wayra muña". Ayacucho - 2012. | 22 |
| Tabla 7. Características organolépticas y pH de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling. "wayra muña". Ayacucho, 2013. | 23 |
| Tabla 8. Metabolitos secundarios presentes en las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 24 |
| Tabla 9. Tipo de emulsión de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 25 |
| Tabla 10. Evaluación de la irritabilidad dérmica primaria según la escala de Draize de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho, 2013. | 27 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|-------------|
| Figura 1. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado a las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 26 |
| Figura 2. Actividad antioxidante por captación de radicales de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 28 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | Pág. |
|--|------|
| Anexo 1. Certificado de Clasificación Taxonomica de <i>Satureja Brevicalyx</i> Epling. Ayacucho - 2012. | 42 |
| Anexo 2. Diseño Experimental para determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña" .Ayacucho - 2012. | 43 |
| Anexo 3. Esquema de las reacciones a realizar para la identificación de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña" .Ayacucho – 2012. | 44 |
| Anexo 4. Evaporación del alcohol del extracto hidroalcohólico de la <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012. | 45 |
| Anexo 5. Atomización del extracto concentrado de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña", con el atomizador mini Spray Dryer B-290. Ayacucho - 2013. | 46 |
| Anexo 6. Conservación y almacenamiento del extracto atomizado de <i>Satureja Brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 47 |
| Anexo 7. Criterios de Solubilidad según USP 35 para determinar el solvente adecuado para el extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho – 2012. | 48 |
| Anexo 8. Insumos utilizados en la elaboración de la crema a base de extracto atomizado de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 49 |
| Anexo 9. Elaboración de la crema a base de extracto atomizado de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 50 |
| Anexo 10. Crema base y cremas elaboradas a base del extracto atomizado de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 51 |

| | |
|---|----|
| Anexo 11. Escala de Draize para evaluar la irritabilidad dérmica de la crema elaborada a base de extracto atomizado de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 52 |
| Anexo 12. Cálculos realizados para obtener las diluciones al 1,25, 50 y 100 ug/ml de la crema elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña" .Ayacucho – 2013. | 53 |
| Anexo 13. Distribución de los grupos de ensayo de las cremas elaboradas al 0,5 %, 1 %, 2 % y 4 %, a base de extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña" .Ayacucho – 2013. | 55 |
| Anexo 14. Determinación de la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña" por el método espectrofotométrico. Ayacucho - 2013. | 56 |
| Anexo 15. Datos descriptivos de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema al 0,5 %, 1%, 2% y 4% del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 57 |
| Anexo 16. Análisis de varianza de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema elaborada con extracto atomizado de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013. | 58 |
| Anexo 17. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema elaborada con extracto atomizado de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling " wayra muña". Ayacucho - 2013. | 59 |
| Anexo 18. Matriz de consistencia de la tesis: Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho -2012. | 60 |

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" que fueron recolectadas en el Centro Poblado de Anchacchuasi, distrito de Vinchos del departamento de Ayacucho, durante el mes de abril del 2012. La identificación de la especie se realizó en el *Herbarium Huamangensis* de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; se identificó catequinas, lactonas, saponinas, flavonoides, fenoles, taninos, triterpenos y/o esteroides como metabolitos secundarios. Se obtuvo el extracto atomizado con un 22,5% de rendimiento, 4,8% de humedad, color beige claro, olor *sui generis*, sabor amargo, polvo fino homogéneo, fácilmente soluble en agua, pH ligeramente ácido, 30,2% de sustancias solubles y 1,59% de cenizas totales. Se elaboró cremas a concentraciones de 0,5%, 1%, 2% y 4%, las cuales presentaron un color dependiente de la concentración del extracto, olor graso, alta evanescencia y poder refrescante, aspecto homogéneo, pH cercanos a la piel, emulsión tipo OW, buena extensibilidad y nula irritabilidad dérmica primaria. La actividad antioxidante de la crema se determinó por el método espectrofotométrico usando DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) como fuente de radicales libres. La crema al 2,0% presenta mayor actividad antioxidante por captación de radicales libres a una concentración de 50µg/ml (99,4%) en comparación a las cremas al 0,5%, 1% y 4% ($p < 0,05$).

Palabras clave: *Satureja brevicalyx*, radical libre, actividad antioxidante.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú es un país rico en recursos naturales y sustenta su riqueza en su gran biodiversidad; habiendo aportado al mundo un gran número de plantas con propiedades curativas. La parte sierra del Perú cuenta con una diversidad muy importante de plantas aromáticas y medicinales tal como *Satureja brevicalyx* Epling conocida vulgarmente como “wayra muña”, ampliamente usada por sus propiedades analgésicas y digestivas.

La presencia de ingredientes naturales en un cosmético es un reclamo publicitario que cuenta con gran aceptación entre los consumidores. Por este motivo, la industria cosmética, ha empezado a prestar gran interés a los ingredientes naturales, impulsando estudios científicos sobre la aplicación de las propiedades de éstos en productos cosméticos.¹ Del mismo modo, los proveedores de materias primas desarrollan continuamente nuevos principios activos, tomando como punto de partida a las frutas y extractos vegetales en muchas ocasiones.²

Las cremas cosméticas representan el 90% de las preparaciones que se encuentran en el mercado y tienen mayor aceptación por parte del consumidor. Muchas cremas presentan en su formulación antioxidantes y dentro de los compuestos naturales de origen vegetal con actividad antioxidante es posible encontrar a las familias pertenecientes al grupo de los compuestos fenólicos o polifenoles.³ Así mismo, algunos de los antioxidantes son vitaminas (A, C y E) utilizadas en formulaciones cosméticas por su capacidad de anular o reducir los procesos oxidativos que se desarrollan dentro del tejido cutáneo⁴ y es *Satureja brevicalyx* Epling reconocida como fuente de compuestos fenólicos.

Los antioxidantes son compuestos que nos protegen del daño oxidativo ocasionado principalmente por los radicales libres. Dicho daño oxidativo es el responsable de importantes enfermedades de carácter degenerativo del sistema circulatorio, enfermedades cardiovasculares, cataratas, envejecimiento precoz y

cáncer, las cuales son las principales causas de muerte en nuestra sociedad.⁵

Los radicales libres alteran el buen funcionamiento de las células de nuestro organismo, atacando a componentes estructurales claves como lípidos y proteínas de la membrana celular, enzimas e incluso al ADN (ácido desoxirribonucleico), responsable del funcionamiento y renovación celular.⁵

La investigación sobre la inhibición de radicales libres es de mucha importancia para tratar las enfermedades relacionadas con la generación de radicales libres.

Por estas consideraciones y con el propósito de contribuir al conocimiento de las bondades que nos ofrece la especie *Satureja brevicalyx* Epling el presente trabajo de investigación tiene como objetivo:

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña", a través del método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo hidratado).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña".
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña".
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos y biológicos de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña".
- Determinar la capacidad antioxidante de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

Desde un tiempo a esta parte las personas prefieren utilizar productos elaborados con ingredientes naturales, por los efectos colaterales que producen determinados medicamentos sintéticos y la búsqueda de alivio por el enfermo para quien la medicina moderna ha resultado ineficaz.

Por ello, las plantas medicinales son una gran fuente de esperanza para la humanidad, sus especies tiene principios activos tan específicos que desafían la síntesis química. Es así, que se están haciendo muchos estudios para comprobar las actividades farmacológicas de las plantas.

Dentro de la gama de plantas con actividad farmacológica encontramos a la *Satureja brevicalyx* Epling conocida por los pobladores como “wayra muña”, planta nativa del Perú que crece en las alturas de nuestra serranía y es utilizada por los pobladores por sus efectos analgésico, antiinflamatorio, antimicrobiano y para afecciones gastrointestinales. Por estas razones, en 1999, Soto⁶ realizó el análisis fitoquímico de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling reportando la presencia de flavonoides (isoflavonas, flavonoles, flavonas y flavononas), triterpenos, esteroide, cumarinas, esencias, taninos, saponinas, catequinas y principios amargos. El estudio mostró la presencia de compuestos fenólicos, principalmente flavonoides que se caracterizan por su efecto antioxidante y que sirvieron de base para realizar otros estudios; por ello en el 2005, Palomino⁷ reporta que el extracto acuoso liofilizado de las hojas *Satureja brevicalyx* Epling presenta un 95% de capacidad antioxidante frente a un 90% con respecto a la vitamina C.

Pasado el tiempo y la inquietud por saber el tipo de flavonoide responsable de la capacidad antioxidante, Aguilar⁸ aísla mediante técnicas cromatográficas dos tipos de flavonoides: apigenina y naringenina, cuya estructura fue elucidada por espectrofotometría ultravioleta (UV) e infrarrojo (IR), demostrando tener actividad

antioxidante mayor del 90%, superior a la rutina y ligeramente inferior a la vitamina C; así mismo, tuvieron actividad antiinflamatoria a la dosis de 200 mg/kg similar al diclofenaco.

En el 2012, León⁹ aísla los ácidos fenólicos por cromatografía de capa fina y los identifica con técnicas espectrales y HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia), logrando identificar el ácido cafeico, clorogénico, ferúlico y rosmarínico, siendo éste último el más importante. Los ácidos fenólicos demostraron tener capacidad antioxidante similar a la vitamina C, ácido ferúlico, cafeico y clorogénico.

2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS

2.2.1 Clasificación Sistemática

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE : ASTERIDAE

ORDEN : LAMIALES

FAMILIA : LAMIACEAE

GENERO : *Satureja*

ESPECIE : *Satureja brevicalyx* Epling

N. V. : "wayra muña".

Sinonimia vulgar: "urqu muña", "wayra muña", "sacha muña", "muña", "incamuña", "salqamuña", "konoc" y "orégano de los incas".¹⁰

La clasificación se realizó en el *Herbarium Huamangensis* según el sistema de clasificación de Cronquist A.

2.2.2. Descripción de la Familia Lamiaceae

Familia compuesta con 224 Géneros y 5 600 Especies, se caracterizan por ser plantas herbáceas (anuales o perennes), con tallos y ramas cuadrangulares o tetragonales generalmente con aceite esencial, aromático, hojas opuestas enteras, simples, pinnatipartidas o raramente compuesta, peciolado o sésil, sin estípulas mayormente pinnatinervias. Inflorescencia cimosa con pocas o muchas flores que se reúnen en pseudo espiga o capítulos. Flores hermafroditas solitarias a menudo sésiles, zigomorfas o raramente actinomorfas, con o sin bracteolas, cáliz con cinco sépalos soldados, corola con cinco pétalos generalmente bilabiados, de 2 a 4 estambres libres, gineceo con ovario súpero bicarpelar, un estilo y dos estigmas, fruto tetraquenio, descompuesto en cuatro núculas (muy raramente carnosas) y semillas con endospermo escaso.¹¹⁻¹³

2.2.3. Descripción del género *Satureja*

Son plantas herbáceas anuales o permanentes de unos 70 a 90 cm de altura, algo tiesos y un tanto ásperos al tacto, solo leñosas en la base. Son plantas con hojas enfrentadas, estrechas y agudas, con los bordes enteros y ciliados. Las flores son blancas o rosadas y nacen de las axilas de las hojas superiores para formar ramilletes terminales con las flores echadas todas a un lado, las flores son muy pequeñas de 3,5 a 8 mm. El cáliz se encuentra dividido en cinco dientes puntiagudos con quince nervios muy realzados. En las hojas de algunas especies de *Satureja* se distinguen numerosos hoyitos, en cada uno de los cuales se aloja una glándula repleta de esencia.^{12,13}

2.2.4. Descripción botánica de la *Satureja brevicalyx* Epling

Es de porte arbustivo perennifolio, erguido de 1,0 a 1,5 m de altura, aromática y pubescente. Hojas muy pequeñas, espatuladas, sésiles, verticiladas y opuestas, de margen entero. Flores blancas, solitarias, axilares, tetrámeras, bilabiadas; cáliz gamosépalo; corola gamopétala; androceo con estambres didínamos; gineceo con ovario súpero, estilo apical y estigma simple. Florece en primavera y verano.^{14,15}

2.2.5. Distribución geográfica

En el Perú la *Satureja brevicalyx* Epling crece en territorios alto andinos mayormente entre los 3 500 y 3 800 msnm de clima frío, creciendo de manera silvestre en las montañas y faldas de los cerros junto con el ichu, es de predilección por laderas de suelos areno-arcillosos y pedregosos. Los lugares peruanos donde esta planta se desarrolla es Cuzco, Apurímac, Huancavelica, Junín y en mayor cantidad en el departamento de Ayacucho.¹⁰

2.2.6. Etnobotánica y etnofarmacología

Según informaciones etnobotánicas y etnofarmacológicas es usada para resolver problemas gastrointestinales y para la corrección de desórdenes menstruales, además es carminativo, analgésico, antimicrobiano y antiespasmódico.^{6,14,15}

En el Perú esta especie se consume en ciertos lugares y el uso es mayormente de carácter etnobotánico. En el departamento de Ayacucho su consumo en forma de infusión es común en los pueblos del área rural.¹⁰

2.2.7. Investigaciones fitoquímicas

Soto⁶ evidenció en el extracto hidroalcohólico la presencia de resinas, azúcares reductores, catequinas, lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, flavonoides y aceites esenciales.

Carhuapoma¹⁰ detalló la composición química del aceite esencial reportando la presencia de pulegona (27,2%), linalol (20,3%), mentona (11,1%), isomentona (8,3%), β -cariofileno (6,5%) y otros compuestos en menor proporción.

Aguilar⁸ aisló e identificó dos flavonoides: apigenina y naringenina por espectrofotometría UV e IR.

León⁹ aisló los ácidos fenólicos por cromatografía en capa fina e identificó el ácido cafeico, clorogénico, ferúlico y rosmarínico mediante espectros de UV, IR y corroborado por HPLC, siendo el ácido rosmarínico el más importante.

2.2.8. Investigaciones farmacológicas

Soto⁶ determinó la actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto hidroalcohólico, aproximando tal actividad a la del ácido acetilsalicílico.

Diez¹⁶ determinó la actividad antiespasmódica sobre el intestino aislado de cobayo, de una infusión acuosa al 5% de hojas y sumidades floridas de *Satureja brevicalyx* Epling mostrando de esta manera una ligera acción antiespasmódica frente al N-butilbromuro de hioscina.

Palomino⁷ determinó que el extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling presenta capacidad de captación de radicales libres en relación a la vitamina C. Además no existe diferencia estadísticamente significativa en los niveles de lipoperoxidación, glutatión y proteínas hepáticas, utilizados como medida de estrés oxidativo.

Carhuapoma¹⁰ determinó que el aceite esencial de la *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña” posee un efecto anti-*Helicobacter pylori*, con una concentración mínima inhibitoria de 1,0 $\mu\text{g/ml}$ y con una concentración mínima bactericida de 2,0 $\mu\text{g/ml}$.

Mendoza¹⁷ demostró el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de las hojas de la *Satureja brevicalyx* Epling, cuya actividad se atribuye a la presencia de flavonoides que actúan como antioxidantes, agente neutralizador de los radicales libres, generadores del daño hepático.

2.3. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de las plantas. Estos compuestos presentan un anillo bencénico hidroxilado como elemento común en sus estructuras moleculares, las cuales pueden incluir grupos funcionales como ésteres, metilésteres, glucósidos, entre otros¹⁸ y la mayoría tiene como origen metabólico la ruta del ácido shikímico y ácido malónico.¹⁹

En la actualidad este grupo de compuestos de origen vegetal presentan gran interés por su contribución al mantenimiento de la salud humana. De hecho, la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a la facilidad de ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático. Los compuestos fenólicos poseen además una estructura química ideal para captar iones metálicos (principalmente hierro y cobre) y por tanto para inhibir la formación de radicales libres.²⁰

2.3.1. Flavonoides: Los flavonoides son un grupo de compuestos polifenólicos, que se forman biogénicamente a través de la ruta del shikimato y acetato malonato, siendo la chalcona el flavonoide inicialmente formado, a partir del cual se derivan las otras clases por modificaciones posteriores que ocurren en varias etapas, entre ellas tenemos a las flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas e isoflavonoides.²¹

Los flavonoides tienen acción benéfica sobre numerosos procesos fisiológicos del cuerpo humano, otorgan beneficios sobre el corazón, vasos sanguíneos, hígado, sistema inmune, tejido conectivo, glándulas adrenales, riñones, musculatura y sistema nervioso. Pueden actuar como antialérgico, antiinflamatorio, inmunoestimulante, antihepatotóxico, espasmódico, antineoplásico, hipoglucemiante y antioxidante.²²

Su capacidad antioxidante le permite neutralizar radicales libres, responsables cuando están dotados de un alto grado de reactividad, esta acción antirradicalaria es, en algunos casos, heterogénea en relación a los distintos tipos de radicales libres (anión superóxido, radical hidroxilo, etc.).^{23,24}

2.3.2. Catequinas: Son bioflavonoides que tienen como estructura básica un núcleo de flavón unido mediante un enlace β -glucosídico a un azúcar. Son moléculas que poseen un alto poder antioxidante, logrando proteger a nuestras células de los radicales libres y estrés oxidativo. Recientes investigaciones han demostrado que las catequinas son 100 veces más efectivas que la vitamina C y 25 veces más potentes que la vitamina E (en cuanto a su poder antioxidante).²⁵

2.3.3. Taninos: Los taninos están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas como proteínas, alcaloides, celulosa y gelatina. Sus propiedades más conocidas y avaladas por la experimentación son debidas a su capacidad para formar complejos con varias sustancias; sin embargo su

actividad antioxidante, basada en la captura de radicales libres e inhibición de la peroxidación lipídica, contribuye a sus acciones farmacológicas.²³

2.4. RADICALES LIBRES

Un radical libre es una molécula que contiene uno o más electrones desapareados en su orbital externo lo que lo convierte en un compuesto altamente inestable y fugaz con gran capacidad de formar otros radicales libres por reacciones químicas en cadena. Tienen una vida media del orden de milisegundos debido a su gran reactividad, aunque ella varía según el tipo de radical libre.²⁶

El metabolismo normal de cada célula es una fuente importante de radicales libres (cuando se metaboliza el alimento para producir energía), pero también se producen por influencias externas cuando nuestro organismo recibe el impacto de diversos contaminantes tales como los gases provenientes de los escapes de los automóviles, la contaminación ambiental, el humo del cigarrillo, algunos productos de limpieza, pesticidas, algunos fármacos, el ejercicio físico excesivo, los rayos ultravioletas del sol, etc. Los radicales libres cumplen numerosas funciones útiles en el organismo (de hecho, nuestro propio cuerpo los fabrica en cantidades moderadas para luchar, por ejemplo, contra las infecciones), pero en cantidades excesivas tienen el potencial de dañar nuestras células y el material genético allí contenido.²⁷

De acuerdo al principal tipo de átomo del cual provienen, los radicales libres se clasifican en especies reactivas derivadas del oxígeno y especies reactivas derivadas del nitrógeno, siendo la primera una especie fuertemente oxidativa que ataca preferentemente moléculas que contienen dentro de su estructura dobles enlaces carbono-carbono o anillos de carbono. De esta forma, aminoácidos, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos que componen a las macromoléculas de la célula, pueden ser "atacadas" y alterar la función o la estructura de la célula.²⁸

2.5. ESTRÉS OXIDATIVO

En determinadas circunstancias la producción de radicales libres puede aumentar en forma descontrolada, situación conocida con el nombre de estrés oxidativo. El concepto expresa la existencia de un desequilibrio entre las velocidades de producción y de destrucción de las moléculas tóxicas que da lugar a un aumento en la concentración celular de los radicales libres. Las células disponen de mecanismos de protección del efecto nocivo de los radicales

libres basado en un complejo mecanismo de defensa constituido por los agentes antioxidantes.²⁹

2.6. ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es aquella sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto al de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.²⁶

El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos tóxicos y que en algunos casos como la vitamina E, pueden regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes. Presentan diferentes mecanismos de acción; unos impiden la formación de los radicales libres y/o especies reactivas (sistema de prevención), otros inhiben la acción de los radicales libres (sistema barrador) y otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación).³⁰

Tabla 1. Clasificación de los antioxidantes.²⁷

| Exógenos | Endógenos | Cofactores |
|-----------------|---------------------------|-------------------|
| Vitamina E | Glutati6n | Cobre |
| Vitamina C | Coenzima Q | Zinc |
| Betacaroteno | Ácido ti6ctico | Manganeso |
| Flavonoides | Enzimas: | Hierro |
| Licopeno | Super6xido dismutasa(SOD) | Selenio |
| | Catalasa | |
| | Glutati6n peroxidasa | |

2.7. CREMAS

Las cremas cosm6ticas son preparados emulsionados de constituci6n pastosa destinadas al cuidado y embellecimiento de la piel. Qu6micamente est6n constituidas por una base que contiene cuerpos grasos, agua, agentes emulsificantes, humectantes y aditivos de diferente naturaleza. De manera general est6n destinadas a ser aplicadas, ya sea directamente al organismo cut6neo o a servir de veh6culo a diferentes principios activos que van a producir efectos especiales. El m6todo seguro de preparar las cremas, consiste en producir emulsiones, a6nadiendo la fase interna a la fase externa.³¹

2.7.1. Cremas A/O

Se obtienen por adici6n de agua o soluciones acuosas a las bases de absorci6n, en ellas, la fase acuosa queda emulsionada como fase interna. Su consistencia es variable y depende de los componentes de ambas fases. Frecuentemente se

les denomina cremas grasas, debido a la sensación untuosa que, clásicamente, estos preparados producen al ser preparados, dejando la piel grasa y brillante.³²

2.7.2. Cremas O/A

Son bases emulgentes adicionados o no de componentes auxiliares (humectantes, estabilizantes, conservantes, etc.) en las que se emulsionan diversas cantidades de agua o soluciones como la fase externa. Son preparados lavables, adherentes a la piel y tienden a desvanecerse una vez aplicados debido a la evaporación de su contenido acuoso, que puede ser muy elevado. La piel queda con un aspecto mate habitual tras la aplicación de estas cremas evanescentes.³²

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de abril del 2012 a marzo del 2013.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Población

Plantas de *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña” que crecen en el Centro Poblado de Anchacchuasi, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

La muestra estuvo constituida por 1 Kg de hojas secas de *Satureja brevicalyx* Epling que fueron recolectadas al azar en el mes de abril del 2012 en horas de la mañana.

La identificación y clasificación de la planta se realizó en el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.3. MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1. Preparación de la muestra

La muestra recolectada se lavó y desinfectó con solución de hipoclorito de sodio. El secado se realizó a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, cambiando el papel de soporte y removiendo el vegetal para evitar su descomposición, por un periodo de siete días. Las hojas secas se seleccionaron y fueron reducidas de tamaño con un molino de cuchillas. La muestra recuperada del molino fue un polvo de color verde oscuro.

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico e identificación de compuestos químicos

Se obtuvo aproximadamente 600 g de muestra seca y molida, que se llevó a maceración por tres días en alcohol de 50° con agitación constante, se cubrió la muestra por un cm de diferencia. Luego se percoló cuatro veces. Los extractos obtenidos se llevaron a baño maría a una temperatura de 50 °C para eliminar el alcohol, que fueron controlados con un alcoholímetro.

La identificación de los principales compuestos químicos (metabolitos secundarios) presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling se realizó según lo descrito por Miranda y Cuellar.³³

3.3.3. Obtención del extracto atomizado

El extracto libre de alcohol fue secado por el atomizador mini Spray Dryer B-290, con un flujo de aire y alimentación en paralelo, a una temperatura de entrada de aire de 150 °C y una temperatura de salida de 67 °C. El flujo de aire de atomización se mantuvo en 40 ml/h, el aspirador en 100% y el bombeo para el ingreso de muestra al atomizador en un 30%.

El extracto atomizado obtenido fue de 140 g y se colocó en un recipiente herméticamente cerrado, pues el extracto atomizado es muy higroscópico.

3.3.4. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado

a) Determinación de las características organolépticas

Olor: Se tomó cantidad suficiente de muestra con una tira de papel secante, para luego percibir y determinar el tipo de olor.

Los términos para describir los olores de la droga son: aromático, aliáceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, entre otros.²⁴

Color: Se colocó cantidad suficiente de muestra en un tubo de ensayo, se observó y se determinó el tipo de color.

Sabor: Se colocó cantidad suficiente de muestra en una luna de reloj, para luego hacer contacto con la lengua y determinar el tipo de sabor (dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc.).

b) Determinación de pH

El pH de la muestra se determinó utilizando el potenciómetro.

c) Identificación de compuestos químicos

La identificación de compuestos químicos (metabolitos secundarios) del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" fueron realizadas según los procedimientos descritos por Miranda y Cuellar.³³

d) Solubilidad

Se colocó un gramo de extracto atomizado en un tubo de ensayo y se añadió un mililitro de disolvente (agua, alcohol o cloroformo), se agitó y se observó. Si la muestra no se disuelve aumentar el disolvente a 10 ml y así sucesivamente para 30 ml, 100 ml, 1000 ml y más de 10 L.

e) Cenizas totales

Se pesó 2,5 g de muestra en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calentó suavemente la muestra aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en una mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, durante dos horas.

Se enfrió el crisol en un desecador y se pesó, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0,5 mg por g (masa constante). Para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.³⁴

Cálculo:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100 (\%)$$

Donde:

C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = masa del crisol vacío (g)

M₁ = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M₂ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para los cálculos.

f) Determinación del contenido de humedad

Se pesó 2 g de muestra y se transfirió a una cápsula de porcelana que fue previamente tarada y secada, seguidamente se desecó a 105 °C durante tres horas. Transcurrido el tiempo la cápsula fue retirada y colocada en el desecador hasta que se enfríe para luego ser pesada. La muestra fue colocada nuevamente en la estufa durante una hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.³⁴

Cálculo:

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100 (\%)$$

Donde:

Hg = Pérdida en peso por desecación.

M₂ = masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g).

M₁ = masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g).

M = masa de la cápsula vacía.

100 = factor matemático.

g) Determinación de sustancias solubles

Se pesó exactamente 5 g de muestra y se transfirió a un matraz de Erlenmeyer de 250 ml; se añadió 100 ml del disolvente, se tapó y se agitó durante 6h, dejándose en reposo hasta el día siguiente; se agitó 30 min, se dejó reposar alrededor de media hora más y se filtró por papel. Se tomó una alícuota de 20 ml que se transfirió a una cápsula previamente tarada. Se evaporó sobre baño de agua, se desecó en estufa a 105 °C durante 3 h, se enfrió y se pesó.³⁴

Cálculo:

$$S = \frac{R \times 500}{M \times (100 - H)} \times 100 (\%)$$

Donde:

S = Sustancias solubles.

H = Humedad de la muestra (%).

500 y 100 = Factores matemáticos para los cálculos.

R = Residuo de la muestra (g).

M = Masa de la muestra (g).

3.3.5. Formulación y elaboración de la crema antioxidante

Tabla 2. Fórmula de las cremas

| PRINCIPIO ACTIVO Y EXCIPIENTES | FÓRMULAS | | | | |
|---|----------|--------|--------|--------|--------|
| | 0,5% | 1% | 2% | 4% | BASE |
| Extracto atomizado de wayra muña (0,5%) | 0,5 | | | | |
| Extracto atomizado de wayra muña (1%) | | 1,0 | | | |
| Extracto atomizado de wayra muña (2%) | | | 2,0 | | |
| Extracto atomizado de wayra muña (4%) | | | | 4,0 | |
| Metilparabeno | 0,0125 | 0,0125 | 0,0125 | 0,0125 | 0,0125 |
| Propilparabeno | 0,0075 | 0,0075 | 0,0075 | 0,0075 | 0,0075 |
| Vaselina líquida | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 |
| Propilenglicol | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| Cera Lanette N | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| Alcohol cetílico | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Agua destilada csp | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |

Método de elaboración de cremas

Formación de la fase oleosa: Se colocó en un vaso de precipitado provista de baño María: cera lanette N, vaselina líquida y alcohol cetílico, se fundió a 70 °C bajo agitación moderada.

Formación de la fase acuosa: Sobre un vaso de precipitado provista de baño María se colocó: muestra atomizada, propilenglicol, metilparabeno, propilparabeno y agua purificada, se fundió a 70 °C bajo agitación moderada.

Formación de la emulsión final: una vez que los ingredientes fueron totalmente disueltos en sus respectivas fases y manteniendo las correspondientes temperaturas, se incorporó lentamente bajo agitación moderada la fase acuosa sobre la fase oleosa, evitando la formación de burbujas, hasta lograr una emulsión completa, luego se retiró el recipiente de la fuente de calor y se siguió agitando lentamente hasta su enfriamiento.

Finalmente se colocó las cremas en envases limpios y secos para sus respectivos ensayos.

3.3.6. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos y biológicos de la crema antioxidante

a) Determinación de las características organolépticas

Color: Se pesó un gramo de muestra sobre una luna de reloj y se colocó sobre un fondo blanco determinando el tipo de color.³⁵

Olor: Se tomó aproximadamente 0,5 g de muestra con el dedo índice de la mano derecha y se extendió en el dorso de la mano izquierda con ligera presión, determinando el tipo de olor.³⁵

Consistencia aparente: Se pesó 4 g de la muestra en un pequeño vaso de precipitado y se agitó con una varilla de vidrio para determinar si la emulsión sufría una alta, moderada o ninguna resistencia. Esto se realizó para determinar si se trataba de una emulsión líquida, semilíquida, cremosa o altamente cremosa.³⁵

Evanescencia, poder refrescante: Se colocó un gramo de muestra en el dorso de la mano y se observó si la crema se evaporaba rápidamente o se mantenía en la mano.³⁵

Homogeneidad: Se realizó una extensión de la muestra sobre un porta objeto y se situó encima de una superficie negra, luego se procedió a visualizar con una lupa.³⁵

Determinación de pH: Se colocó 2 g de muestra en un vaso de precipitado, se agregó 30 ml de agua destilada, se agitó y se midió el pH. Así determinamos si la emulsión es alcalina o básica.³⁵

b) Identificación de compuestos químicos

Los metabolitos secundarios de las cremas elaboradas con el extracto atomizado se realizaron según los procedimientos descritos por Miranda y Cuellar.³³

c) Determinación del tipo de emulsión o signo de emulsión

Método de dilución: En dos tubos de ensayo se colocó 1 a 5 ml de emulsión, a uno de ellos se agregó 5 ml de agua y al otro 5ml de alcohol, se mezcló y se observó.

El tubo que presenta un aspecto homogéneo indica la fase externa de la emulsión, es decir, si presenta una dispersión homogénea en agua la fase externa es acuosa (O/W) y si es homogénea en vaselina o alcohol la fase externa es oleosa (W/O).³⁵

Método de los colorantes: En dos láminas portaobjetos se colocó uno o dos gotas de emulsión, a uno de ellos se adicionó azul de metileno (solución acuosa concentrada) y a la otra sudan III (solución oleosa), se mezcló y se llevó al microscopio para su observación.

Cuando el colorante es soluble en la fase externa se observa un campo uniformemente coloreado (azul de metileno = color azul y sudan III = color rojo) y puntos incoloros refringentes de la fase interna. Así mismo, cuando el colorante

es soluble en la fase interna (glóbulos) se observará puntos coloreados con el correspondiente colorante y el resto del campo incoloro.³⁵

d) Determinación del índice de extensibilidad

Para realizar el ensayo se utilizó dos placas de cristal (10 x 10 cm) entre las cuales se colocó dos gramos de crema (se trabajó a una variación de temperatura de $\pm 0,5$ °C).

Se colocó la placa inferior de cristal sobre una hoja de papel milimetrado, se recuadró la placa y se trazaron las diagonales para colocar la muestra del preparado sobre el punto de intersección. Se pesó la placa superior y se situó sobre la inferior. Pasado un determinado tiempo (1 minuto), y por efecto de la presión, la preparación se extendió de forma aproximadamente circular, se anotó los valores de los dos diámetros y se calculó el diámetro medio. A partir de éste, se calculó la superficie del círculo formado.

Se repitió esta operación con sucesivos pesos (50, 100, 200 y 500 g) colocados en el centro de la placa.

Representar la extensibilidad en cm^2 ($\text{Área} = (d^2 \times \pi)/4$) frente a los pesos empleados.³⁵

e) Determinación de la irritabilidad dérmica primaria

Se emplearon seis conejos albinos, cuyos pesos oscilaban entre 2 y 2,5 kg. Se depiló el dorso de los animales con una crema depiladora aproximadamente 10 x 10 cm de área. Veinticuatro horas después de haber preparado la piel, se aplicó 0,5 g de crema sobre el dorso del animal, se cubrió con una pequeña gasa y se fijó en el dorso con esparadrapo y venda elástica para prevenir el acceso del animal al sitio de aplicación de la crema. La crema fue aplicada en dosis única. Transcurrida cuatro horas, se procedió a retirar la gasa. El período de observación fue de 72 h, vigilando especialmente la aparición de signos de edema y eritema. Las respuestas de la piel se evaluaron a las 1, 24, 48 y 72 horas mediante la escala de valores descrita por Draize para la evaluación de las lesiones de la piel.³⁵

Tabla 3. Escala de índice de irritabilidad dérmica primaria.

| Categoría de la reacción | Puntuación promedio |
|---------------------------------|----------------------------|
| Insignificante | De 0 a 0,4. |
| Leve | De 0,5 a 1,9. |
| Moderada | De 2 a 4,9. |
| Grave | De 5 a 8. |

3.6.7. Evaluación de la actividad antioxidante de la crema (método DPPH)

Fundamento: El DPPH es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm de forma que su concentración se pueda determinar mediante métodos espectrofotométricos. En el ensayo se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH.³⁶

a) Preparación del DPPH

Se pesó cinco miligramos de DPPH y se colocó en un fiola de 100 ml la cual se aforó con metanol, obteniéndose de esta manera una concentración de 50 µg/ml.

b) Preparación de la muestra

De las cremas formuladas al 0,5%, 1%, 2% y 4% se pesó un gramo de cada una de ellas en un vaso de precipitado y se agregó 25 ml de metanol. Seguidamente se filtró y se preparó diluciones de 100, 50, 25 y 1 µg/ml.

Una vez preparadas las diluciones se tomó de cada una de ellas 3 ml y se adicionó 1 ml de solución de DPPH las cuales se agitaron vigorosamente y se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente por cinco minutos; transcurrido el tiempo se procedió a leer la absorbancia de las muestra (n=3) a 517 nm. Se utilizó metanol para calibrar el espectrofotómetro.³⁷

Cálculo:

$$\% \text{ Capacidad antioxidante} = \left[1 - \frac{(A_2 - A_3)}{A_1} \right] \times 100$$

Donde:

A_1 = Absorbancia del patrón de referencia.

A_2 = Absorbancia de la muestra.

A_3 = Absorbancia del blanco de la muestra.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos están organizados en una matriz para calcular la media y la desviación estándar, asimismo, están graficados en forma de histogramas y barras.

La significancia estadística entre las diferentes cremas está determinada mediante el análisis de varianza y la prueba de Duncan con un nivel de confianza de un 95 %.

IV.RESULTADOS

Tabla 4. Principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012.

| Metabolitos secundarios | Ensayos | Resultados | Observaciones |
|---------------------------------------|--|------------|---|
| Catequinas | Catequinas | + | Fluorescencia verde carmelita |
| Lactonas | Baljet | + | Color rojo |
| Saponinas | Espuma | + | Espuma de 3mm de altura y persiste por más de 2 minutos |
| Fenoles y/o taninos | Cloruro Férrico | +++ | Coloración rojo-vino |
| Flavonoides | Shinoda | +++ | Coloración naranja |
| Flavonoides | Reacción con álcalis | +++ | Coloración naranja |
| Flavonoides | Reacción con H ₂ SO ₄ conc. | +++ | Coloración amarilla |
| Triterpenos y/o esteroides | Liebermann - Burchard | + | Coloración rosada |

Leyenda:

- (+) : Escasa
- (++) : Moderada
- (+++): Abundante

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña”. Ayacucho - 2012.

| Parámetros | Ensayos | Resultados |
|----------------------------|-------------------------|----------------------|
| Organolépticos | Color | Beige |
| | Olor | <i>Sui generis</i> |
| | Sabor | Amargo |
| | Aspecto | Polvo fino homogéneo |
| Solubilidad | Agua | Fácilmente soluble |
| | Cloroformo | Poco soluble |
| | Etanol | Insoluble |
| pH | Extracto atomizado 0,5% | 5,52 |
| | Extracto atomizado 1% | 5,49 |
| | Extracto atomizado 2% | 5,42 |
| | Extracto atomizado 4% | 5,36 |
| Humedad | Perdida por desecación | 4,80 % |
| Sustancias solubles | Sustancias extraíbles | 30,20 % |
| Cenizas | Cenizas totales | 1,59 % |
| Rendimiento | % Rendimiento | 22,5 |

Tabla 6. Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling. "wayra muña". Ayacucho - 2012.

| Metabolitos secundarios | Ensayos | Resultados | Observaciones |
|-----------------------------------|--|------------|---|
| Catequinas | Catequinas | + | Fluorescencia verde carmelita |
| Lactonas | Baljet | + | Color rojo |
| Saponinas | Espuma | + | Espuma de 3mm de altura y persiste por más de 2 minutos |
| Fenoles y/o taninos | Cloruro Ferrico | +++ | Coloración rojo-vino |
| Flavonoides | Shinoda | +++ | Coloración naranja |
| Flavonoides | Reacción con álcalis | +++ | Coloración naranja |
| Flavonoides | Reacción con H ₂ SO ₄ conc. | +++ | Coloración amarilla |
| Triterpenos y/o esteroides | Liebermann - Burchard | + | Coloración rosada |

Leyenda:

- (+) : Escasa
- (++) : Moderada
- (+++): Abundante

Tabla 7. Características organolépticas y pH de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling. "wayra muña". Ayacucho - 2013.

| Parámetros | Ensayos | Resultados | |
|-----------------------|---------------------------------|-------------|--|
| Organolépticos | Color | Crema base | Blanco |
| | | Crema 0,5% | Crema |
| | | Crema 1% | Beige |
| | | Crema 2% | Pardo |
| | | Crema 4% | Pardo oscuro |
| | Olor | Cremas | Graso |
| | Evanescencia, poder refrescante | Cremas | Alta evanescencia y poder refrescante |
| | Consistencia aparente | Cremas | Cremosa |
| | Aspecto | Crema | Homogéneo |
| | pH | Crema base | 7,35 |
| Crema 0,5% | | 6,62 | |
| Crema 1% | | 6,35 | |
| Crema 2% | | 6,16 | |
| Crema 4% | | 5,93 | |

Tabla 8. Metabolitos secundarios presentes en las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho, 2013.

| Metabolitos secundarios | Ensayos | Resultados | | | | |
|-----------------------------------|---|------------|----|----|----|------|
| | | 0,5% | 1% | 2% | 4% | Base |
| Catequinas | Catequinas | - | - | + | + | - |
| Fenoles y/o taninos | Cloruro Férrico | + | ++ | ++ | ++ | - |
| Flavonoides | Shinoda | + | ++ | ++ | ++ | - |
| Flavonoides | Reacción con álcalis | + | ++ | ++ | ++ | - |
| Flavonoides | Reacción con H ₂ SO ₄ conc. | - | + | ++ | ++ | - |
| Triterpenos y/o esteroides | Liebermann - Burchard | - | - | + | + | - |

Leyenda:

- (-) : Ausente
- (+) : Escasa
- (++) : Moderada

Tabla 9. Tipo de emulsión de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

| Método | Solvente | Resultados |
|-------------------|------------------------------|--|
| Dilución | Agua purificada | Homogéneo Soluble (Emulsión O/W) |
| | Alcohol etílico | Heterogéneo Insoluble |
| Colorantes | Solución de azul de metileno | Fase externa color azul Fase interna incolora (Emulsión O/W) |
| | Solución de Sudán III | Fase externa incolora Fase interna color rojo |

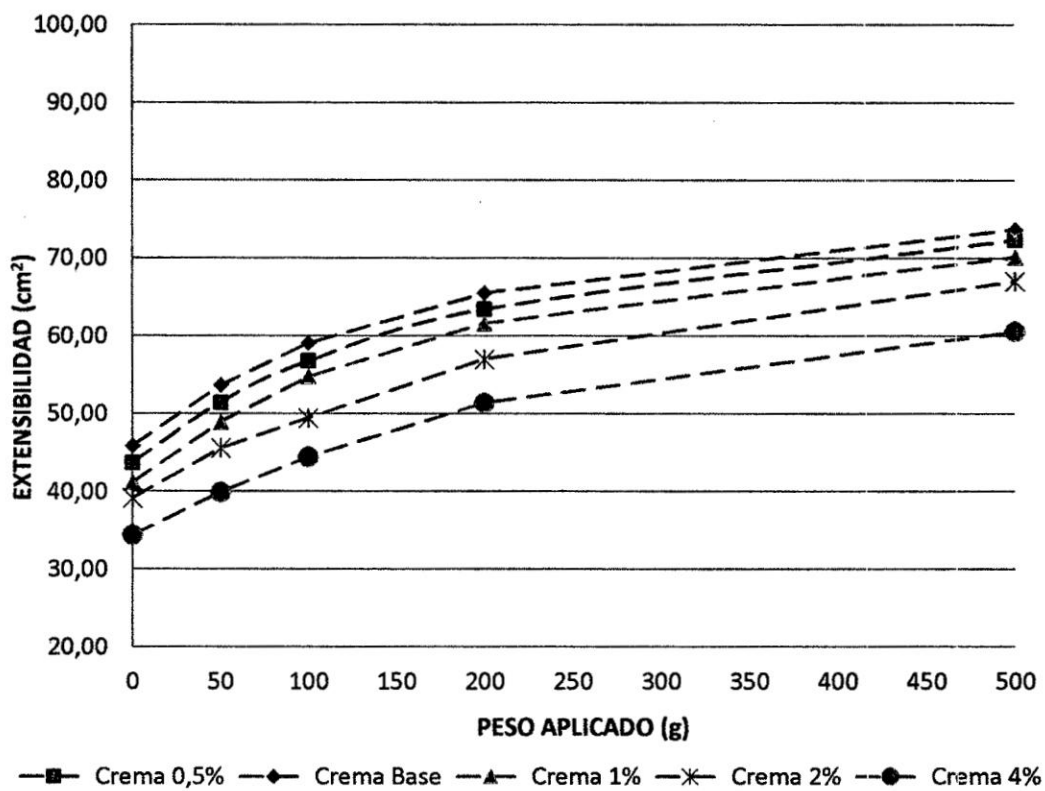


Figura 1. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado a las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

Tabla 10. Evaluación de la irritabilidad dérmica primaria según la escala de Draize de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

| Parámetro | Fórmula | Resultados | | | |
|---------------------------------------|------------|------------|-----|----------|-----|
| | | 24 Horas | | 72 Horas | |
| | | Er. | Ed. | Er. | Ed. |
| Irritabilidad dérmica primaria | Crema base | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Crema 0,5% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Crema 1% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Crema 2% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Crema 4% | 0 | 0 | 0 | 0 |

Leyenda:
 Er. : Eritema.
 Ed.: Edema.

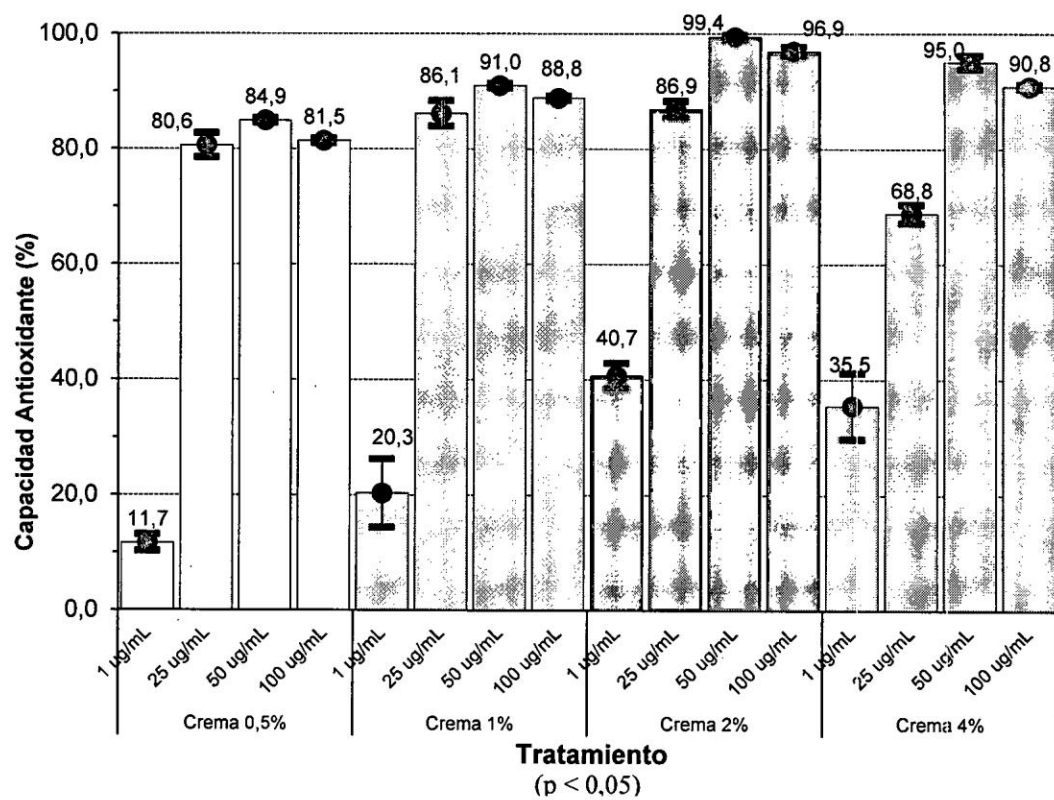


Figura 2. Actividad antioxidante por captación de radicales libres de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

V. DISCUSIÓN

Las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" se recolectaron y seleccionaron en el Centro Poblado de Anchacchuasi, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

En la Tabla 4 se observa que los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico son catequinas, lactonas, saponinas, triterpenos y/o esteroides, las cuales se encuentran en cantidades escasas, mientras que la presencia de flavonoides, fenoles y/o taninos son abundantes en comparación a lo señalado por Soto⁶, quien reporta la presencia moderada de metabolitos. La diferencia se puede atribuir a la concentración de alcohol (50°) utilizada para la extracción y/o a la zona de recolección de la planta en estudio.

La Tabla 5 muestra un 22,5% de rendimiento, es decir de 600 g de hojas secas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" se obtuvo 135 g de extracto atomizado.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos se determinó que el extracto atomizado presenta un color beige, olor *sui generis*, sabor amargo y polvo fino homogéneo. El extracto es fácilmente soluble en agua, poco soluble en cloroformo e insoluble en etanol. Tiene pH ácido y es dependiente de las concentraciones, al 0,5% el pH es 5,52; al 1%, 5,49; al 2%, 5,42 y al 4%, 5,36. La humedad es 4,80%, valor que se encuentra dentro de lo recomendado por Palomino,³⁸ quien indica que para una buena conservación el contenido de humedad debe ser inferior al 10% y así evitar el crecimiento de bacterias y hongos, además ayuda a expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca. Adicionalmente, debido a que el extracto en polvo es muy higroscópico requiere ser almacenado en un recipiente de sellado hermético y protegido de la humedad. Por último, el porcentaje de sustancias solubles es de 30,20% y las cenizas totales es de 1,59%.

La Tabla 6 muestra los metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado: catequinas, lactonas, saponinas, fenoles, taninos, triterpenos y/o esteroides, identificados según lo descrito por Miranda y Cuellar.³³ Comparándose con la Tabla 4 se demuestra que durante el proceso de secado por atomización no se pierden los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico, principalmente los fenoles y flavonoides que en muchos estudios reportan su efecto antioxidante.

En la Tabla 7 se observa que las cremas elaboradas presentan una buena característica organoléptica, en ellas se aprecia que el color de las cremas dependen de la concentración del extracto atomizado de "wayra muña", la crema base es de color blanco, la crema al 0,5% es de color crema, la crema al 1% es beige, la crema al 2% es pardo y la crema al 4,0% es pardo oscuro. Tienen un olor graso característico debido a la presencia de vaselina y alcohol cetílico. Presentan una alta evanescencia y poder refrescante requisito indispensable en una crema cosmética según Molinero y Garcia.³⁹ Además de presentar una apariencia cremosa, es homogénea, lo cual demuestra la compatibilidad que existe entre el extracto atomizado de "wayra muña" y los excipientes.

Los resultados del pH de las cremas son: la crema base tiene un pH neutro de 7,35 y las cremas que contienen extracto atomizado dentro de su formulación presentan un pH ácido que aumenta según el incremento de la concentración de extracto atomizado en la crema. Según Harry⁴⁰ las emulsiones de tipo O/W son inestables a un pH inferior a 5,0; por tanto el pH de las cremas al 0,5%, 1%, 2% y 4% de extracto atomizado de "wayra muña" cumple con lo mencionado por el autor. Para Rodriguez,⁴¹ es necesario tener en cuenta que el pH de las cremas para uso farmacéutico y cosmético de aplicación tópica se deben ajustar a un pH entre 4 - 6; en ese intervalo varía el pH de la piel. Diferentes estudios han demostrado que el pH del vehículo, así como el pH de la piel son importantes para la penetración y difusión de las drogas en las diferentes capas de la piel. Por otro lado, Orlandini⁴² refiere que cuando el pH de la superficie de la piel es más alcalina, se produce prurito y dermatitis de carácter inespecífico, las que se evitan con la formulación de cremas con pH similares a la piel.

Otro de los principales parámetros a ser evaluados es la identificación de los principales metabolitos presentes en la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling responsables del efecto antioxidante en estudio. La Tabla 8 muestra la presencia de fenoles, taninos,

catequinas, flavonoides, triterpenos y/o esteroides en la crema, observándose que algunos metabolitos se encuentran disminuidos en comparación con el extracto atomizado de “wayra muña”, debido a que las cremas fueron elaboradas con un pequeño porcentaje de extracto atomizado (0,5%, 1%, 2% y 4%).

La Tabla 9 muestra el tipo de emulsión: por el método de dilución las cremas en estudio son solubles en agua y presentan un aspecto homogéneo, es decir, la fase externa es acuosa, lo cual indica que se trata de una emulsión O/W. Del mismo modo, el método de los colorantes muestra que al adicionar azul de metileno todo el campo se colorea uniformemente de azul con algunos puntos incoloros, debido a que el azul de metileno es hidrosoluble, mientras que al adicionar Sudan III se observa un campo incoloro con puntos de color rojo, debido a que el colorante es liposoluble. Por tanto concluimos que la crema es una emulsión tipo O/W.

En un estudio de formulación de cremas farmacéuticas o cosméticas es necesario evaluar el comportamiento reológico por su influencia en la estabilidad y en la textura como menciona Signorelli.⁴³ En este estudio se considera el índice de extensibilidad, parámetro que proporciona una medida del umbral de deformación del sistema, y se representa en la Figura 1 donde se observa que la extensibilidad es aproximadamente proporcional al peso aplicado (a mayor peso, mayor extensibilidad), llegando a un punto donde al aplicar mayor peso la extensibilidad es constante, la figura muestra que la crema al 0,5% tiene mayor extensibilidad cuando se aplica 500 g de peso, dando como resultado 72,40 cm², seguido de la crema al 1% con 70,21 cm², la crema al 2% con 67,08 cm² y la crema al 4% con 60,64 cm², estos comportamientos se debe a que las formulaciones tiene diferentes cantidades de agua y extracto atomizados en su composición (ver Tabla 2).

Rodriguez⁴⁴ menciona que dentro del campo de la toxicología experimental se encuentra la toxicidad aguda que incluye el test de irritabilidad dérmica descrito por Draize, esta prueba brinda información sobre los efectos adversos que pueden observarse luego de la aplicación dérmica del producto. La Tabla 10 muestra los resultados de la irritabilidad dérmica de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña” a las 24 y 72 horas. En este intervalo de tiempo no se observó ningún tipo de eritema ni edema, por tanto, el resultado de irritabilidad dérmica primaria de la

crema a las diferentes concentraciones es igual a cero. Aplicando la escala de Draize se clasifican a las cremas como no irritantes.

Para determinar la actividad antioxidante se usó el método de decoloración del radical DPPH, que nos da confianza y seguridad en los resultados, ya que se trata de un radical estable y estandarizado.⁴⁵ Se trabajó con cremas a concentraciones de 0,5%, 1%, 2% y 4% de extracto atomizado de las hojas de "wayra muña", de las cuales se prepararon diluciones para obtener concentraciones de 1 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml y 100 µg/ml.³⁷

La Figura 2 representa los resultados estadísticos obtenidos mediante la prueba de Duncan, donde se observa que al menos una de las diferentes concentraciones es estadísticamente diferente ($p < 0,05$). Sin embargo, la crema al 2% a una concentración de 50 µg/ml presenta mayor actividad antioxidante por captación de radicales libres (99,4%) respecto a las cremas al 0,5%, 1% y 4% que presentaron un 84,9%, 91% y 95% respectivamente; estas variaciones también se observan en las concentraciones al 1 µg/ml, 25 µg/ml y 100 µg/ml. Además las cremas al 0,5%, 1% y 2% disminuyen su capacidad de captación de radicales libres a una concentración de 100 µg/ml, lo mismo ocurre con la crema al 4% que al contrario de aumentar la actividad antioxidante por contener mayor porcentaje de extracto atomizado disminuye, probablemente debido a la presencia de partículas suspendidas en la muestra que al ser leída en el espectrofotómetro impiden la absorción de la luz.

En conclusión, todos los resultados nos conducen a afirmar que la crema al 2% a una concentración 50 µg/ml elaborado a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" presenta mayor actividad antioxidante (99,4%).

VI. CONCLUSIONES

1. Entre los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña", se identificó taninos y flavonoides.
2. Se evaluó los parámetros físicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña".
3. Los parámetros físicoquímicos y biológicos de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña", cumplen cada una de ellas con lo establecido para una forma farmacéutica semisólida.
4. Las cremas elaboradas con el extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" al 0,5%, 1%, 2% y 4% presentaron actividad antioxidante, que fue variando de acuerdo a la concentración de extracto atomizado.
5. El efecto antioxidante óptimo lo presentó la crema al 2% elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" con un 99,4% de actividad antioxidante por captación de radicales libres.

VII. RECOMENDACIONES

1. Trabajar con extracto hidroalcohólico al 50% cuando se pretenda realizar extractos atomizados de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" para evitar la extracción de grasas y aceites que dificulta el proceso de atomizado.
2. Realizar estudios de la actividad fotoprotectora de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de *Satureja brevicalyx* Epling.
3. Realizar el estudio de estabilidad y clínicos en modelos biológicos de cremas O/W elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" a una concentración del 2%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wang H., Provan J., Helliwell K. Tea flavonoids: their functions utilisation and analysis. Trends in Food Science & Technology. April 2000.
2. Rodas E., López K., Tul Y. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión. Tesis para optar Título de Químico Farmacéutico. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. 2010.
3. Duthie G., Duthie S., Kylea J. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. Nutrition Research Reviews. June 2000.
4. Castañeda B., Ramos E., Ibañez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Revista Horizonte Médico [Revista en línea]. 2008. [Consultado el 25 octubre 2012]; 8(1). Disponible en: http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008_1/Art4_Vol8_N1.pdf
5. Caillet S., Salmiéri S., Lacroix M. Evaluation of free radical scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method. Food chemistry. Volume 95, Issue 1, March 2006.
6. Soto M. Estudio fitoquímico y determinación de la actividad analgésica en diferentes extractos de la *Satureja brevicalyx Epl.* "wayra muña". Tesis para optar Título de Químico Farmacéutico. Ayacucho: UNSCH.1999.
7. Palomino R. Efecto antioxidante del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Satureja brevicalyx Epl.* "wayra muña". Tesis para optar Título de Químico Farmacéutico. Ayacucho: UNSCH.2005.
8. Aguilar E. Actividad antioxidante y antiinflamatoria de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalyx Epl.* "wayra muña". Ayacucho: UNSCH. 2010.
9. León L. Actividad antioxidante de los ácidos fenólicos aislados de las hojas de *Satureja brevicalyx Epl.* "wayra muña". Ayacucho: UNSCH. 2012.
10. Carhuapoma M. Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx Epling* "urqu muña". Tesis para optar el Grado de Doctor en Farmacia y Bioquímica. Lima: UNMSM. 2007.
11. Brako L, Zarucchi J. Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Missouri: Missouri Botanical Garden; 1993.
12. Font Quer. Plantas medicinales. 7ma. ed. España: Labor S.A. 1981.
13. Mostacero J, Mejia F, Gamarra O. Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Trujillo: Normas Legales.2002.
14. Chumacero A. Iparraguirre D. et al. Género *Satureja* (Lamiaceae) en la etnomedicina Andina. Lima: Facultad de Biología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2003.
15. Carhuapoma, M. Plantas Medicinales Aromáticas Nativas de la Provincia de Huamanga y sus Perspectivas Económicas. Ayacucho: UNSCH. 2002.
16. Diez, J. Efecto antiespasmódico de la *Satureja brevicalyx Epl.* "wayra muña" sobre ileon aislado de rata. Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho: UNSCH. 2003.
17. Mendoza, J. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de las hojas de *Satureja brevicalyx Epl.* "wayra muña" en ratas. Tesis para optar Título de Químico Farmacéutico. Ayacucho: UNSCH. 2007.
18. Martínez I., Periago M., Ros G. Nutritional meaning of the phenolic compounds from the diet. Archivos Latinoamericanos de Nutrición.2000.
19. Robards K., Prenzler P. et al. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. Food Chemistry. 1999.

20. Rice C., Ruiz M. et al. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. Free Radical Research. 1997.
21. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. 2da. ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
22. Evans W. Farmacognosia. 3ra ed. México: Nueva editorial interamericana S.A. Mc Graw Hill; 1991.
23. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega; 2003.
24. Villar del Fresno M. Farmacognosia General. Madrid: Síntesis; 1999.
25. Montana. Catequinas. Boletín Alimentos [Boletín en línea]. 2012 [Consultado 2 noviembre 2012]. Disponible en:
<http://www.montana.com.pe/boletines/alimentos/02/catequinas.html>
26. Halliwell B., Gutteridge J. Free Radicals in Biology and Medicine. 3ra ed. Oxford: Science Publications; 1998.
27. Criado C., Moya M. Actualizaciones el Médico: Vitaminas y Antioxidantes. Madrid: Grupo Saned; 2009.
28. Gutiérrez J. ¿Qué sabe usted acerca de Radicales Libres?. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas [Revista en línea]. 2006 [Consultado 15 Octubre 2012]; 37(4). Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx>.
29. Davies K. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. Biochemical Society Symposium. 1998.
30. Halliwell B. Antioxidant Defense Mechanisms: From The Beginning to the End (of the beginning) Free Radic Res. 1999.
31. Helman J. Farmacotécnica: Teoría y Práctica. 1ra ed. México: Compañía editorial continental S.A; 1981.
32. Trillo F. Tratado de farmacia galénica. 1ra ed. Madrid: Luzán S.A. Ediciones; 1993.
33. Miranda M., Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de La Habana: Editorial Félix Varela; 2000.
34. Miranda, M. Métodos de análisis de drogas y extractos. La Habana – Cuba: Universidad de la Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos. 2002.
35. Navarro A. Actividad fotoprotectora de la crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico del propóleo de *Apis mellifera* "abeja" en ratas albinas Holtzman. Tesis para optar Título de Químico Farmacéutico. Ayacucho – Perú: UNSCH. 2010.
36. Rosales A., Betancort J. Evaluación de actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas. España: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 2006.
37. Heberlé G., Araújo M., Magri S. Cosmetic formulations containing blueberry extracts (*Vaccinium myrtillus* L). Journal of Science and Technology. January 2012.
38. Palomino, O. Métodos analíticos para la identificación de Plantas Medicinales. Apuntes del Curso de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI). España. 2001.
39. Molinero M., García M. Formulación magistral: Prácticas de laboratorio. 1º ed. España. Ediciones paraninfo S.A.; 2014.
40. Harry, W. Cosmetología. Madrid – España. Editorial Diaz de Santos S.A.; 1990
41. Rodríguez J. Formulación de una Emulsión Submicrométrica Cosmética para el Tratamiento de la Celulitis. Tesis de Maestría (Ingeniería Química

- ULA). Venezuela. Universidad de los Andes. 2004. Disponible en: http://www.firp.ula.ve/archivos/tesis/04_MS_Rodriguez_J.pdf
42. Orlandini, M. Piel sana y manto ácido. Folia dermatológica del Perú. Lima. 2004.
 43. Signorelli I., Isla M. Elaboración de una crema para el uso tópico a base de *Urticaria dioica* L. Revista de Farmacia y Bioanálisis. Vol. 47. Merida – Venezuela. Universidad de los Andes. 2005.
 44. Rodriguez A., León M., Hernandez A., Junco E. Prueba de Irritabilidad Dermica Primaria del *Plantago major* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Camaguey – Cuba. 1996.
 45. Szabo M., Iditoiu C., Chambre D., Lupea A. Improved DPPH Determination for Antioxidant Activity Spectrophotometric Assay. Chem Pap. 2007.

ANEXOS

**Anexo 1. Certificado de Clasificación Taxonómica de *Satureja brevicalyx* Epling.
Ayacucho - 2012.**



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que, la Egresada en Farmacia y Bioquímica, Srta. Zarina Jéssica, VICUÑA
GAMARRA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de
tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación
de Cronquist. A. 1988. y es como sigue.

| | | |
|-----------|---|----------------------------------|
| DIVISIÓN | : | MAGNOLIOPHYTA |
| CLASE | : | MAGNOLIOPSIDA |
| SUB CLASE | : | ASTERIDAE |
| ORDEN | : | LAMIALES |
| FAMILIA | : | LAMIACEAE |
| GENERO | : | Satureja |
| ESPECIE | : | <i>Satureja brevicalyx. Epl.</i> |
| N.V. | : | "wayra muña" |

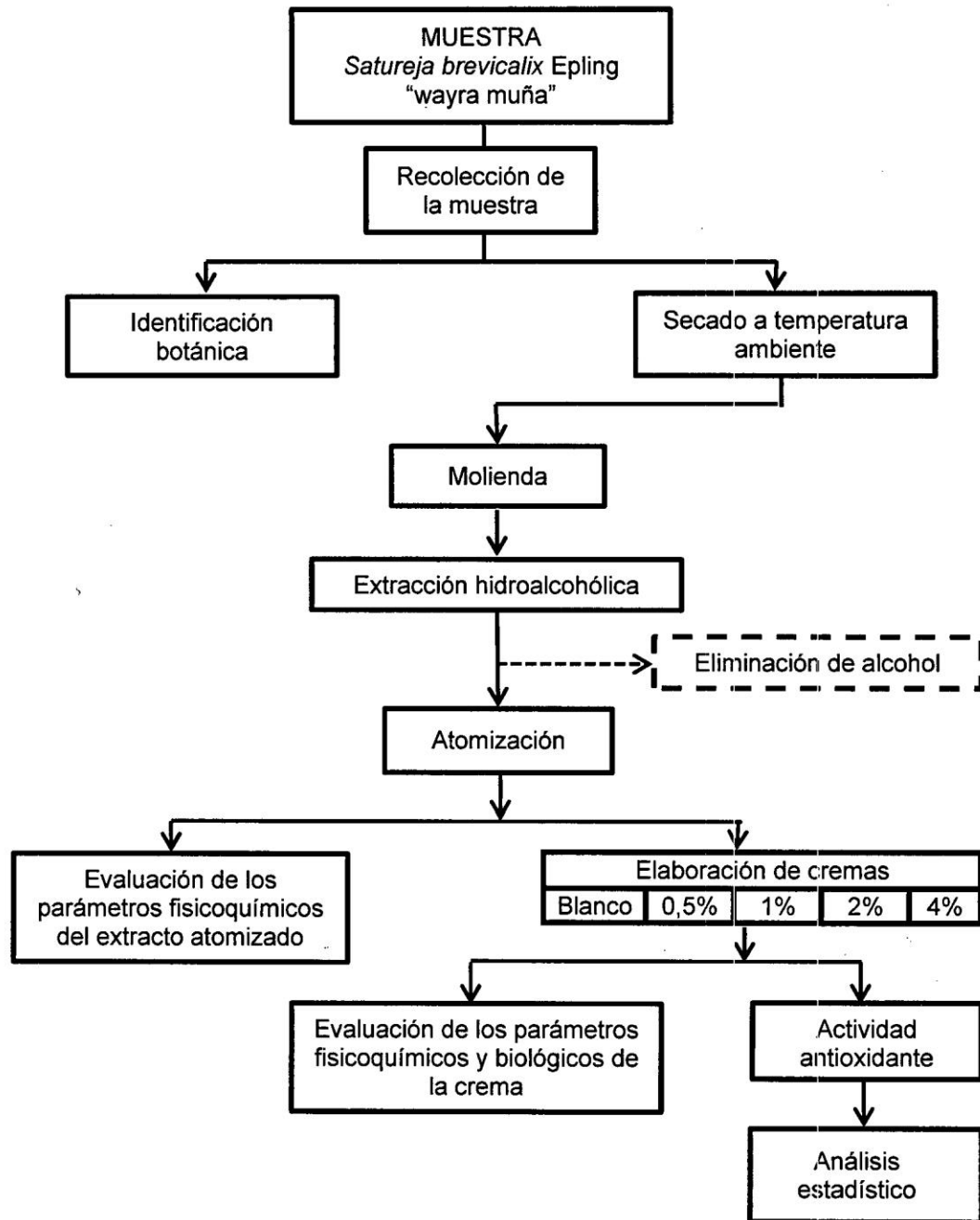
Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada
para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 06 de Setiembre del 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Bga. Laura Quispe Huamani
JFR

Anexo 2. Diseño experimental para determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" .Ayacucho - 2012.



Anexo 3. Esquema de las reacciones realizadas para la identificación de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" .Ayacucho – 2012.



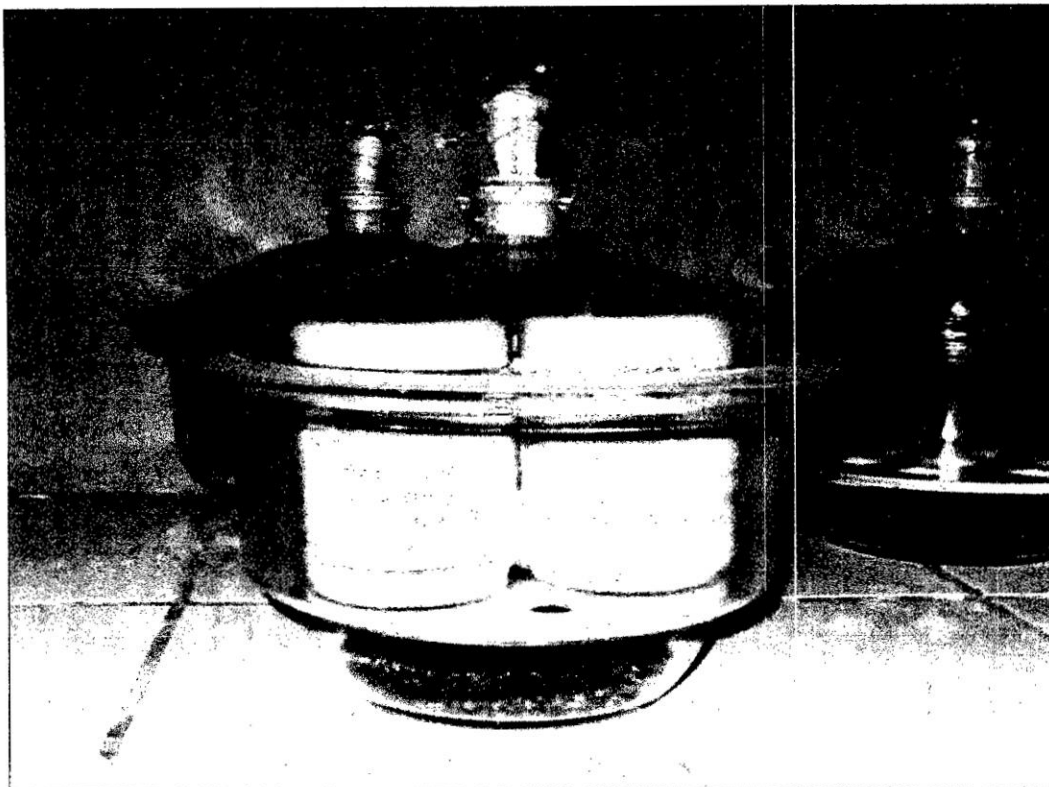
Anexo 4. Evaporación del alcohol del extracto hidroalcohólico de la *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012.



Anexo 5. Atomización del extracto concentrado de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña", con el atomizador mini Spray Dryer B-290. Ayacucho - 2012.



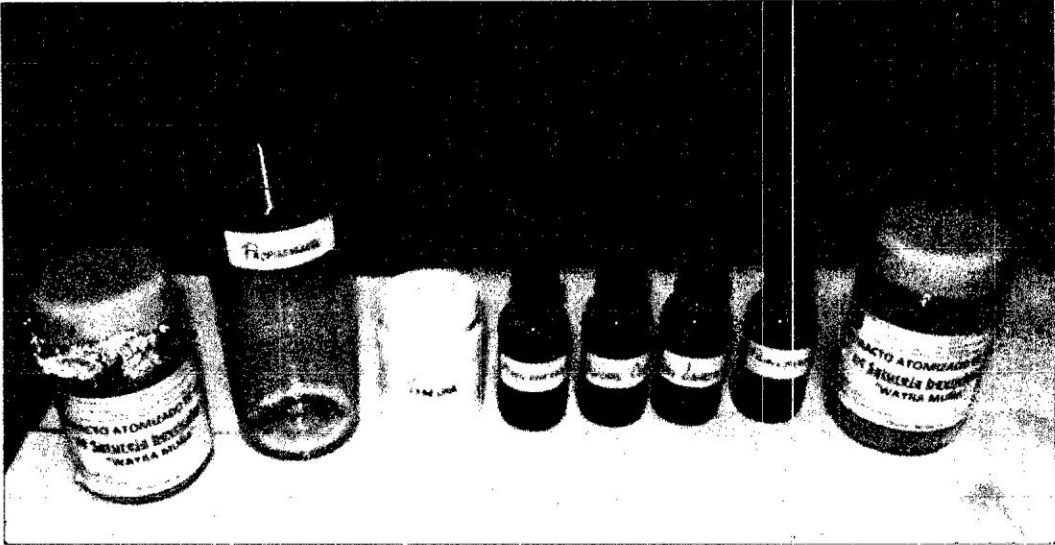
Anexo 6. Conservación y almacenamiento del extracto atomizado de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012.



Anexo 7. Criterios de Solubilidad según USP 35 para determinar el solvente adecuado para el extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho – 2012.

| Termino descriptivo | Partes de disolvente requeridas para 1 parte de soluto |
|--|---|
| Muy soluble | Menos de 1 |
| Fácilmente soluble | De 1 a 10 |
| Soluble | De 10 a 30 |
| Moderadamente soluble | De 30 a 100 |
| Poco soluble | De 100 a 1000 |
| Muy poco soluble | De 1 000 a 10 000 |
| Prácticamente insoluble o insoluble | 10 000 o más |

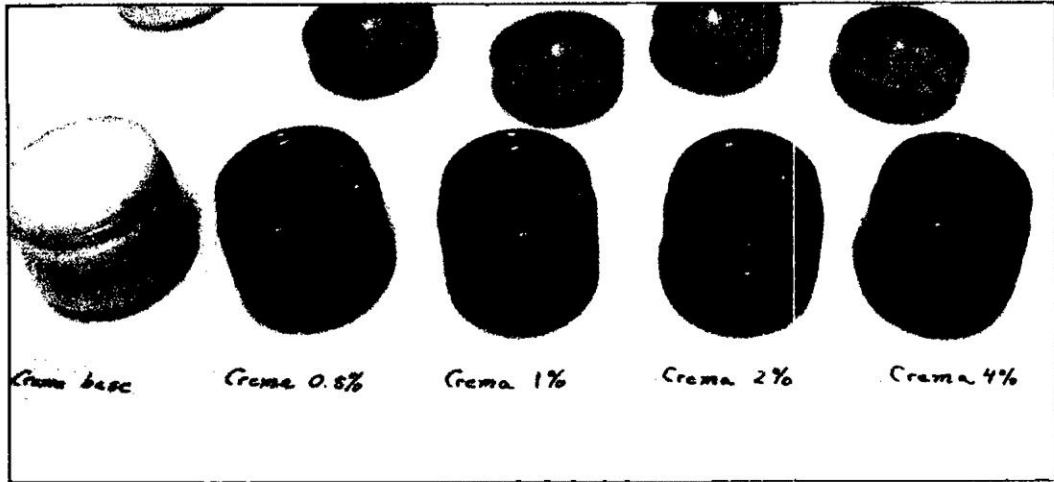
Anexo 8. Insumos utilizados en la elaboración de la crema a base de extracto atomizado de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.



Anexo 9. Elaboración de la crema a base de extracto atomizado de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.



Anexo 10. Crema base y cremas elaboradas a base del extracto atomizado de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.



Anexo 11. Escala de Draize para evaluar la irritabilidad dérmicas de la crema elaborada a base de extracto atomizado de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

| Formación de eritema | Valor |
|--|--------------|
| No hay presencia de eritema. | 0 |
| Eritema muy leve (casi imperceptible). | 1 |
| Eritema bien definido. | 2 |
| Eritema de moderado a severo. | 3 |
| Eritema severo (rojo remolacha) con formación de escaras (lesiones profundas). | 4 |

| Formación de edema | Valor |
|--|--------------|
| No hay presencia de edema. | 0 |
| Edema muy ligero (casi imperceptible). | 1 |
| Edema ligero (área bien definida con una elevación significativa). | 2 |
| Edema moderado (elevación de aproximadamente 1 mm). | 3 |
| Edema severo (elevación mayor a 1 mm y extendiéndose más allá del área de exposición). | 4 |

Anexo 12. Cálculos realizados para obtener diluciones al 1,25, 50 y 100 ug/ml de la crema elaborada a base de extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" .Ayacucho – 2013.

Crema al 0,5%

1,5 g de crema —————→ 25 ml de MeOH

1,5 g de crema se diluirá en 25 ml de metanol y se obtendrá una concentración de 300 ug/ml, de esta concentración se harán diluciones para obtener las concentraciones de:

1 ug/ml —→ 0,1 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

25ug/ml —→ 2,5 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

50 ug/ml —→ 5 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

100 ug/ml —→ 0,75 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

Crema al 1%

1,5 g de crema —————→ 25 ml de MeOH

1,5 g de crema se diluirá en 25 ml de metanol y se obtendrá una concentración de 600 ug/ml, de esta concentración se harán diluciones para obtener las concentraciones de:

1 ug/ml —→ 0,05 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

25ug/ml —→ 1,25 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

50 ug/ml —→ 2,5 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

100 ug/ml —→ 5 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

Crema al 2%

1,125 g de crema —————→ 25 ml de MeOH

1,125 g de crema se diluirá en 25 ml de metanol y se obtendrá una concentración de 900 ug/ml, de esta concentración se harán diluciones para obtener las concentraciones de:

1 ug/ml —→ 0,033 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

25ug/ml —→ 0,83 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

50 ug/ml —→1,67 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

100 ug/ml —→ 3,33 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

Crema al 4%

0,75 g de crema —————→ 25 ml de MeOH

0,75 g de crema se diluirá en 25 ml de metanol y se obtendrá una concentración de 1 200 ug/ml, de esta concentración se harán diluciones para obtener las concentraciones de:

1 ug/ml → 0,025 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

25ug/ml → 0,625 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

50 ug/ml → 1,25 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

100 ug/ml → 2,5 ml de solución Madre y se enrraza a 10 ml con MeOH

Anexo 13: Distribución de los grupos de ensayo de las cremas elaboradas al 0,5%, 1%, 2% y 4%, a base de extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" .Ayacucho – 2013.

| Grupo | Blanco de muestra (3 mL de muestra + 1 mL de metanol)* | Patrón de referencia (3 mL de metanol + 1 mL de DPPH) | Muestra problema (3 ml de muestra + 1 ml de DPPH) | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|---|--|--|---|---|---|-------------|---|---|---|-------------|---|---|---|-------------|---|---|---|---|
| | | | Crema al 0,5 % | | | | Crema al 1% | | | | Crema al 2% | | | | Crema al 4% | | | | |
| | | | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | |
| 1 | x | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | x | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | | | x | x | x | x | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | x | x | x | x | | | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | | | | | | x | x | x | x | | | | |
| 6 | | | | | | | | | | | | | | | | x | x | x | x |

Leyenda:

- A : dilución metanólica de 1ug/ml.
- B : dilución metanólica de 25ug/ml.
- C : dilución metanólica de 50 ug/ml.
- D : dilución metanólica de 100 ug/ml.

* El espectrofotómetro es calibrado con metanol.

Anexo 15. Datos descriptivos de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema al 0,5%, 1%, 2% y 4% del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

| Descriptivos | | | | | | | | |
|-----------------|-----------|----------------|-----------------|---|-----------------|-----------------|--------------|--------------|
| | N | Desviación | | Intervalo de confianza para la media al 95% | | | Mínimo | Máximo |
| | | Media | típica | Error típico | Límite inferior | Límite superior | | |
| 0,5% - 1ug/ml | 3 | 11,6633 | ,57327 | ,33097 | 10,2393 | 13,0874 | 11,02 | 12,12 |
| 0,5% - 25ug/ml | 3 | 80,6233 | ,84014 | ,48505 | 78,5363 | 82,7104 | 79,89 | 81,54 |
| 0,5% - 50ug/ml | 3 | 84,9400 | ,15588 | ,09000 | 84,5528 | 85,3272 | 84,85 | 85,12 |
| 0,5% - 100ug/ml | 3 | 81,4500 | ,15588 | ,09000 | 81,0628 | 81,8372 | 81,27 | 81,54 |
| 1% - 1ug/ml | 3 | 20,2933 | 2,37908 | 1,37356 | 14,3834 | 26,2033 | 18,18 | 22,87 |
| 1% - 25ug/ml | 3 | 86,1333 | ,88867 | ,51307 | 83,9258 | 88,3409 | 85,12 | 86,78 |
| 1% - 50ug/ml | 3 | 91,0000 | ,15588 | ,09000 | 90,6128 | 91,3872 | 90,91 | 91,18 |
| 1% - 100ug/ml | 3 | 88,8000 | ,15588 | ,09000 | 88,4128 | 89,1872 | 88,71 | 88,98 |
| 2% - 1ug/ml | 3 | 40,6800 | ,88504 | ,51098 | 38,4814 | 42,8786 | 39,67 | 41,32 |
| 2% - 25ug/ml | 3 | 86,8700 | ,57166 | ,33005 | 85,4499 | 88,2901 | 86,23 | 87,33 |
| 2% - 50ug/ml | 3 | 99,3567 | ,16166 | ,09333 | 98,9551 | 99,7582 | 99,17 | 99,45 |
| 2% - 100ug/ml | 3 | 96,8767 | ,32332 | ,18667 | 96,0735 | 97,6798 | 96,69 | 97,25 |
| 4% - 1ug/ml | 3 | 35,4467 | 2,29544 | 1,32527 | 29,7445 | 41,1488 | 33,61 | 38,02 |
| 4% - 25ug/ml | 3 | 68,7800 | ,64086 | ,37000 | 67,1880 | 70,3720 | 68,04 | 69,15 |
| 4% - 50ug/ml | 3 | 95,0433 | ,47920 | ,27667 | 93,8529 | 96,2337 | 94,49 | 95,32 |
| 4% - 100ug/ml | 3 | 90,8167 | ,16166 | ,09333 | 90,4151 | 91,2182 | 90,63 | 90,91 |
| Total | 48 | 72,4233 | 28,01523 | 4,04365 | 64,2886 | 80,5581 | 11,02 | 99,45 |

Anexo 14. Determinación de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" por el método espectrofotométrico. Ayacucho - 2013.



Anexo 16. Análisis de varianza de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema elaborada con extracto atomizado de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

| ANOVA | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|----------|------|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| Inter-grupos | 36858,589 | 15 | 2457,239 | 2664,089 | ,000 |
| Intra-grupos | 29,515 | 32 | ,922 | | |
| Total | 36888,104 | 47 | | | |

Anexo 17. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema elaborada con extracto atomizado de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

| | | Actividad Antioxidante (%) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|-----------------|------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Factor | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | | | | | |
| Duncan ^a | 0,5% - 1ug/ml | 3 | 11,6633 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1% - 1ug/ml | 3 | | 20,2933 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 4% - 1ug/ml | 3 | | | 35,4467 | | | | | | | | | | | | | | |
| | 2% - 1ug/ml | 3 | | | | 40,6800 | | | | | | | | | | | | | |
| | 4% - 25ug/ml | 3 | | | | | 68,7800 | | | | | | | | | | | | |
| | 0,5% - 25ug/ml | 3 | | | | | | 80,6233 | | | | | | | | | | | |
| | 0,5% - 100ug/ml | 3 | | | | | | | 81,4500 | | | | | | | | | | |
| | 0,5% - 50ug/ml | 3 | | | | | | | | 84,9400 | | | | | | | | | |
| | 1% - 25ug/ml | 3 | | | | | | | | | 86,1333 | 86,1333 | | | | | | | |
| | 2% - 25ug/ml | 3 | | | | | | | | | | | 86,8700 | | | | | | |
| | 1% - 100ug/ml | 3 | | | | | | | | | | | | 88,8000 | | | | | |
| | 4% - 100ug/ml | 3 | | | | | | | | | | | | | 90,8167 | | | | |
| | 1% - 50ug/ml | 3 | | | | | | | | | | | | | | 91,0000 | | | |
| | 4% - 50ug/ml | 3 | | | | | | | | | | | | | | | 95,0433 | | |
| | 2% - 100ug/ml | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | 96,8767 | |
| | 2% - 50ug/ml | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | 99,3567 |
| | Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | ,300 | ,138 | ,355 | 1,000 | ,817 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | |

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Anexo 18. Matriz de consistencia de la tesis: Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho -2012.

| Titulo | Problema | Objetivos | Marco Teórico | Hipótesis | Variables | Metodología |
|---|--|---|---|--|--|---|
| <p>Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012</p> | <p>¿Tendrá actividad antioxidante la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña"?</p> | <p>Objetivo general: Evaluar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña".</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Identificar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". - Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". - Evaluar los parámetros fisicoquímicos y biológicos de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". - Determinar la capacidad antioxidante de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña". | <p><i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña" es una especie medicinal nativa utilizado tradicionalmente en trastornos gastrointestinales. Posee propiedades analgésicas (Soto, 1999), antioxidantes (Toma, 2008) (Arias, 2008) (Palomino, 2004), antiinflamatoria (Aguilar, 2010), hepatoprotectora (Mendoza, 2007), antiespasmódica (Díez, 2002) y anti-<i>Helicobacter pylori</i> (Carhuapoma, 2007). Los compuestos fenólicos presentan gran interés por su contribución al mantenimiento de la salud humana. De hecho, la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático (Rice, 1997). Entre los compuestos fenólicos identificados en la <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña" tenemos a los flavonoides, taninos y catequinas (Soto, 1999).</p> | <p>La crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña" tiene actividad antioxidante.</p> | <p>Variable Independiente: Concentraciones de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña".</p> <p>Indicadores: Concentración al 0.5%. Concentración al 1%. Concentración al 2%. Concentración al 4%.</p> <p>Variable Dependiente: Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de <i>Satureja brevicalyx</i> Epling "wayra muña".</p> <p>Indicador: Decoloración del radical DPPH.</p> | <p>Tipo de investigación: Básica - experimental.</p> <p>Población: <i>Satureja brevicalyx</i> Epling que crece en el centro poblado de Anchacchuasi, distrito de Vinchos,.</p> <p>Muestra: 1 Kg. de hojas secas.</p> <p>Metodología: La actividad antioxidante será determinada según Heberlé (2009).</p> <p>Análisis estadístico: Los datos se reportaran en tablas y gráficos. La significancia estadística será determinada mediante el análisis de varianza y la prueba de Duncan ($p < 0,05$).</p> |

Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña”

Zarina Jessica Vicuña Gamarra¹. Marco Rolando Arones Jara¹

¹E.F.P. Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas, UNSCH. Ayacucho, Perú.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña” que fueron recolectadas en el Centro Poblado de Anchacchuasi, distrito de Vinchos del departamento de Ayacucho, durante el mes de abril del 2012. La identificación de la especie se realizó en el *Herbarium Huamangensis* de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; se identificó catequinas, lactonas, saponinas, flavonoides, fenoles, taninos, triterpenos y/o esteroides como metabolitos secundarios. Se obtuvo el extracto atomizado con un 22,5% de rendimiento, 4,8% de humedad, color beige claro, olor *sui generis*, sabor amargo, polvo fino homogéneo, fácilmente soluble en agua, pH ligeramente ácido, 30,2% de sustancias solubles y 1,59% de cenizas totales. Se elaboró cremas a concentraciones de 0,5%, 1%, 2% y 4%, las cuales presentaron un color dependiente de la concentración del extracto, olor graso, alta evanescencia y poder refrescante, aspecto homogéneo, pH cercanos a la piel, emulsión tipo O/W, buena extensibilidad y nula irritabilidad dérmica primaria. La actividad antioxidante de la crema se determinó por el método espectrofotométrico usando DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) como fuente de radicales libres. La crema al 2,0% presenta mayor actividad antioxidante por captación de radicales libres a una concentración de 50µg/ml (99,4%) en comparación a las cremas al 0,5%, 1% y 4% (p<0,05).

Palabras clave: *Satureja brevicalyx*, radical libre, actividad antioxidante.

SUMMARY

The aim of this work was to assess the antioxidant activity of the cream of the atomized extract of *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña” leaves, the material was collected in Anchacchuasi town, District of Vinchos, Department of Ayacucho, on April 2012. *Herbarium Huamangensis* – UNSCH identified the botanical specie. Catechins, lactones, saponins, flavonoids, phenolic compounds, tannins, triterpenoids and steroids were identified as secondary metabolites. The atomized extract was obtained with a 22,5 % efficiency and 4,8 % moisture; It is light beige color, sui generis odor, bitter flavor, homogeneous fine powder, freely soluble in water, slightly acidic pH value, with 30,2% soluble substances and 1,59% total ash. We performed creams in different concentrations, 0,5%, 1%, 2% y 4%, each one showed color intensity depending of the concentration of the extract, homogeneous appearance, greasy odor, O/W emulsion, pH values seem to the skin, high evanescence and refreshing power, good extensibility and scarce primary dermal irritability. Antioxidant activity was detected by the spectrophotometric method using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) as a source of free radicals. The cream at the concentration of 2,0 % with dilution of 50µg/mL have showed better antioxidant activity by free radical scavenging 99,4% than the others (p <0, 05).

Key words: *Satureja brevicalyx*, free radicals, antioxidant activity

INTRODUCCIÓN

En la sierra del Perú la *Satureja brevicalyx* Epling conocida vulgarmente como “wayra muña”, es ampliamente utilizada por sus propiedades analgésicas y digestivas.

La presencia de ingredientes naturales en un cosmético es un reclamo publicitario que cuenta con gran aceptación entre los consumidores. Por este motivo, la industria cosmética, ha empezado a prestar gran interés a los ingredientes naturales, impulsando estudios científicos sobre la aplicación de las propiedades de éstos en productos cosméticos.¹ Del mismo modo, los proveedores de materias primas desarrollan continuamente nuevos principios activos, tomando como punto de partida a las frutas y extractos vegetales en muchas ocasiones.²

Las cremas cosméticas representan el 90% de las preparaciones que se encuentran en el mercado y tienen mayor aceptación por parte del consumidor. Muchas cremas presentan en su formulación antioxidantes y dentro de los compuestos naturales de origen vegetal con actividad antioxidante es posible encontrar a las familias pertenecientes al grupo de los compuestos fenólicos o polifenoles.³ Así mismo, algunos de los antioxidantes son vitaminas (A, C y E) utilizadas en formulaciones cosméticas por su capacidad de anular o reducir los procesos oxidativos que se desarrollan dentro del tejido

cutáneo⁴ y es *Satureja brevicalyx* Epling reconocida como fuente de compuestos fenólicos.

Los antioxidantes son compuestos que nos protegen del daño oxidativo ocasionado principalmente por los radicales libres. Dicho daño oxidativo es el responsable de importantes enfermedades de carácter degenerativo del sistema circulatorio, enfermedades cardiovasculares, cataratas, envejecimiento precoz y cáncer, las cuales son las principales causas de muerte en nuestra sociedad.⁵

Por estas consideraciones y con el propósito de contribuir al conocimiento de las bondades que nos ofrece la especie *Satureja brevicalyx* Epling el presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña”, a través del método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo hidratado).

MATERIALES Y MÉTODOS

Población: Plantas de *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña” que crecen en el Centro Poblado de Anchacchuasi, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

Muestra: La muestra estuvo constituida por 1 Kg de hojas secas de *Satureja brevicalyx* Epling que fueron recolectadas al azar en el mes de abril en horas de la mañana.

Obtención del extracto hidroalcohólico e identificación de compuestos químicos: la muestra seca y molida, fue macerada por tres días en alcohol de 50° y llevada a baño maría para eliminar restos de alcohol.

Los principales compuestos químicos se identificaron siguiendo la metodología propuesta por Miranda y Cuellar.⁶

Obtención del extracto atomizado: Se obtuvo mediante el equipo atomizador mini Spray Dryer B-290.

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado: se determinó el pH; las características organolépticas se analizaron según la metodología descrita por Villar de Fresno⁷; los compuestos químicos se identificaron según los procedimientos de Miranda y Cuellar⁶; la solubilidad, cenizas totales, contenido de humedad y sustancias solubles se determinaron según Miranda.⁸

Elaboración de la crema antioxidante: se colocó en un vaso de precipitado provista de baño María los excipientes de carácter lipófilo y en otro vaso los excipientes de carácter hidrófilo en esta última se adicionó la muestra atomizada. Una vez disueltos totalmente en sus respectivas fases y manteniendo las correspondientes temperaturas, se incorporó lentamente bajo agitación moderada la fase acuosa sobre la fase oleosa, evitando la formación de burbujas, hasta lograr una emulsión completa, luego se retiró el recipiente de la fuente de calor y se siguió agitando lentamente hasta su enfriamiento. Se elaboró cremas a las concentraciones de 0,5%, 1%, 2% y 4%.

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos y biológicos de la crema antioxidante: Se analizó las características organolépticas, tipo de emulsión, índice de extensibilidad e irritabilidad dérmica primaria según los procedimientos descritos por Navarro⁹ y los principales compuestos químicos se identificaron siguiendo la metodología propuesta por Miranda y Cuellar.⁶

Evaluación de la actividad antioxidante de la crema (método DPPH): El DPPH es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm de forma que su concentración se pueda determinar mediante métodos espectrofotométricos. En el ensayo se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH.¹⁰

Para la evaluación de la actividad antioxidante se preparó una solución metanólica de DPPH a una concentración de 50 µg/ml.

De las cremas formuladas al 0,5%, 1%, 2% y 4% se pesó un gramo de cada una de ellas en un vaso de precipitado y se agregó 25 ml de metanol. Seguidamente se filtró y se preparó diluciones de 100, 50, 25 y 1 µg/ml.

Una vez preparadas las diluciones se tomó de cada una de ellas 3 ml y se adicionó 1 ml de solución de DPPH las cuales se agitaron vigorosamente y se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente por cinco minutos; transcurrido el tiempo se procedió a leer la absorbancia de la muestra (n=3) a 517 nm. Se utilizó metanol para calibrar el espectrofotómetro.¹¹

$$\% \text{ Capacidad antioxidante} = \left[1 - \frac{(A_2 - A_3)}{A_1} \right] \times 100$$

Donde:

A₁ = Absorbancia del patrón de referencia.

A₂ = Absorbancia de la muestra.

A₃ = Absorbancia del blanco de la muestra.

Análisis Estadístico.- La significancia estadística entre las diferentes cremas está determinada mediante el análisis de varianza y la prueba de Duncan con un nivel de confianza de un 95 %.

RESULTADOS

Tabla 1. Principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012.

| Metabolitos secundarios | Ensayos | Resultados | Observaciones |
|----------------------------|---|------------|---|
| Catequinas | Catequina | + | Fluorescencia verde carmelita |
| Lactonas | Baljet | + | Color rojo |
| Saponinas | Espuma | + | Espuma de 3mm de altura y persiste por más de 2 minutos |
| Fenoles y/o taninos | Cloruro Férrico | +++ | Coloración rojo-vino |
| Flavonoides | Shinoda | +++ | Coloración naranja |
| Flavonoides | Reacción con álcalis | +++ | Coloración naranja |
| Flavonoides | Reacción con H ₂ SO ₄ conc. | +++ | Coloración amarilla |
| Triterpenos y/o esteroides | Lieberman n Burchard | - + | Coloración rosada |

Leyenda: (+): Escasa; (++) : Moderada; (+++): Abundante

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2012.

| Parámetros | Ensayos | Resultados |
|---------------------|-------------------------|----------------------|
| Organolépticos | Color | Beige |
| | Olor | <i>Sui generis</i> |
| | Sabor | Amargo |
| | Aspecto | Polvo fino homogéneo |
| Solubilidad | Agua | Fácilmente soluble |
| | Cloroformo | Poco soluble |
| | Etanol | Insoluble |
| pH | Extracto atomizado 0,5% | 5,52 |
| | Extracto atomizado 1% | 5,49 |
| | Extracto atomizado 2% | 5,42 |
| | Extracto atomizado 4% | 5,36 |
| Humedad | Perdida por desecación | 4,80 % |
| Sustancias solubles | Sustancias extraíbles | 30,20 % |
| Cenizas | Cenizas totales | 1,59 % |
| Rendimiento | % Rendimiento | 22,5 |

Tabla 3. Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling. "wayra muña". Ayacucho - 2012.

| Metabolitos secundarios | Ensayos | Resultados | Observaciones |
|-----------------------------------|---|------------|---|
| <i>Catequinas</i> | Catequinas | + | Fluorescencia verde carmelita |
| <i>Lactonas</i> | Baljet | + | Color rojo |
| <i>Saponinas</i> | Espuma | + | Espuma de 3mm de altura y persiste por más de 2 minutos |
| <i>Fenoles y/o taninos</i> | Cloruro Ferrico | +++ | Coloración rojo-vino |
| <i>Flavonoides</i> | Shinoda | +++ | Coloración naranja |
| <i>Flavonoides</i> | Reacción con álcalis | +++ | Coloración naranja |
| <i>Flavonoides</i> | Reacción con H ₂ SO ₄ conc. | +++ | Coloración amarilla |
| <i>Triterpenos y/o esteroides</i> | Liebermann - Burchard | + | Coloración rosada |

Leyenda: (+): Escasa; (++) : Moderada; (+++) : Abundante

Tabla 4. Características organolépticas y pH de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling. "wayra muña". Ayacucho - 2013.

| Parámetros | Ensayos | Resultados | |
|----------------|---------------------------------|--|---|
| Organolépticos | Color | Crema base Crema 0,5% Crema 1% Crema 2% Crema 4% | Blanco Crema Beige Pardo Pardo oscuro |
| | Olor | Crema s | Graso |
| | Evanescencia, poder refrescante | Crema s | Alta evanescencia y poder refrescante |
| | Consistencia aparente | Crema s | Cremosa |
| | Aspecto | Crema | Homogéneo |
| | pH | Crema base | 7,35 |
| | | Crema 0,5% | 6,62 |
| | | Crema 1% | 6,35 |
| | | Crema 2% | 6,16 |
| | | Crema 4% | 5,93 |

Tabla 5. Metabolitos secundarios presentes en las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho, 2013.

| Metabolitos secundarios | Ensayos | Resultados | | | | |
|-----------------------------------|---|------------|----|----|----|------|
| | | 0,5% | 1% | 2% | 4% | Base |
| <i>Catequinas</i> | Catequinas | - | - | + | + | - |
| <i>Fenoles y/o taninos</i> | Cloruro Férrico | + | ++ | ++ | ++ | - |
| <i>Flavonoides</i> | Shinoda | + | ++ | ++ | ++ | - |
| <i>Flavonoides</i> | Reacción con álcalis | + | ++ | ++ | ++ | - |
| <i>Flavonoides</i> | Reacción con H ₂ SO ₄ conc. | - | + | ++ | ++ | - |
| <i>Triterpenos y/o esteroides</i> | Liebermann - Burchard | - | - | + | + | - |

Leyenda: (-): Ausente; (+) : Escasa; (++) : Moderada

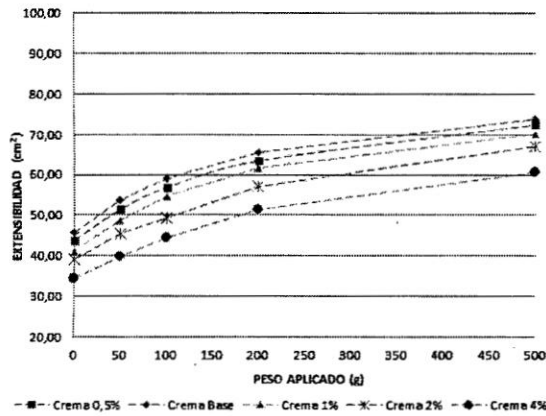


Figura 1. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado a las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

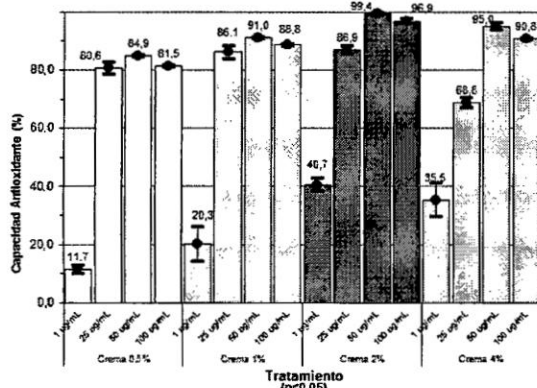


Figura 2. Actividad antioxidante por captación de radicales libres de las cremas elaboradas a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". Ayacucho - 2013.

DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observa que los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico son catequinas, lactonas, saponinas, triterpenos y/o esteroides, las cuales se encuentran en cantidades escasas, mientras que la presencia de flavonoides, fenoles y/o taninos son abundantes en comparación a lo señalado por Soto¹², quien reporta la presencia moderada de estos metabolitos. La diferencia se puede atribuir a la concentración de alcohol (50°) utilizada para la extracción y/o a la zona de recolección de la planta en estudio.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos mostrados en la Tabla 2 se observa que el extracto atomizado presenta un color beige, olor *sui generis*, sabor amargo y polvo fino homogéneo. El extracto es fácilmente soluble en agua, poco soluble en cloroformo e insoluble en etanol. Tiene pH ácido y es dependiente de las concentraciones, al 0,5% el pH es 5,52; al 1%, 5,49; al 2%, 5,42 y al 4%, 5,36. La humedad es 4,80%, valor que se encuentra dentro de lo recomendado por Palomino,¹³ quien indica que para una buena conservación el contenido de humedad debe ser inferior al 10% y así evitar el crecimiento de bacterias y hongos, además ayuda a expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca. Adicionalmente, debido a que el extracto en polvo es muy

higroscópico requiere ser almacenado en un recipiente de sellado hermético y protegido de la humedad. Por último, el porcentaje de sustancias solubles es 30,20%, cenizas totales 1,59% y 22,5% de rendimiento.

La Tabla 3 muestra los metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado: catequinas, lactonas, saponinas, fenoles, taninos, triterpenos y/o esteroides, identificados según lo descrito por Miranda y Cuellar⁶, comparando con la Tabla 4 se observa que durante el proceso de secado por atomización no se pierden los metabolitos responsables del efecto farmacológico, principalmente los fenoles y flavonoides que en muchos estudios reportan su efecto antioxidante.

En la Tabla 4 se observa que las cremas elaboradas presentan una buena característica organoléptica, en ellas se aprecia que el color de las cremas depende de la concentración del extracto atomizado de "wayra muña", la crema base es de color blanco, la crema al 0,5% es de color crema, la crema al 1% es beige, la crema al 2% es pardo y la crema al 4,0% es pardo oscuro. Tienen un olor graso característico debido a la presencia de vaselina y alcohol cetílico. Presentan una alta evanescencia y poder refrescante requisito indispensable en una crema cosmética según Molinero y García.¹⁴ Además de presentar una apariencia cremosa, es homogénea, lo cual demuestra la compatibilidad que existe entre el extracto atomizado de "wayra muña" y los excipientes.

Los resultados del pH de las cremas son: la crema base tiene un pH neutro de 7,35 y las cremas que contienen extracto atomizado dentro de su formulación presentan un pH ácido que aumenta según el incremento de la concentración de extracto atomizado en la crema. Según Harry¹⁵ las emulsiones de tipo O/W son inestables a un pH inferior a 5,0; por tanto el pH de las cremas al 0,5%, 1%, 2% y 4% de extracto atomizado de "wayra muña" cumple con lo mencionado por el autor. Para Rodríguez,¹⁶ es necesario tener en cuenta que el pH de las cremas para uso farmacéutico y cosmético de aplicación tópica se deben ajustar a un pH entre 4 - 6; en ese intervalo varía el pH de la piel. Diferentes estudios han demostrado que el pH del vehículo, así como el pH de la piel son importantes para la penetración y difusión de las drogas en las diferentes capas de la piel. Por otro lado, Orlandini¹⁷ refiere que cuando el pH de la superficie de la piel es más alcalina, se produce prurito y dermatitis de carácter inespecífico, las que se evitan con la formulación de cremas con pH similares a la piel.

Se determinó que la crema elaborada es de tipo OW y que presenta nula irritabilidad dérmica primaria.

Otro de los principales parámetros a ser evaluados es la identificación de los principales metabolitos presentes en la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling responsables del efecto antioxidante en estudio. La Tabla 5 muestra la presencia de fenoles, taninos, catequinas, flavonoides, triterpenos y/o esteroides en la crema, observándose que algunos metabolitos se encuentran disminuidos en comparación con el extracto atomizado de "wayra muña", debido a que las cremas fueron elaboradas con un pequeño porcentaje de extracto atomizado (0,5%, 1%, 2% y 4%).

En un estudio de formulación de cremas farmacéuticas o cosméticas es necesario evaluar el comportamiento reológico por su influencia en la estabilidad y en la textura como menciona Signorelli.¹⁸ En este estudio se considera el índice de extensibilidad, parámetro que proporciona una medida del umbral de deformación del sistema, y se representa en la Figura 1 donde se observa que la extensibilidad es aproximadamente proporcional al peso

aplicado (a mayor peso, mayor extensibilidad), llegando a un punto donde al aplicar mayor peso la extensibilidad es constante, la figura muestra que la crema al 0,5% tiene mayor extensibilidad cuando se aplica 500 g de peso, dando como resultado 72,40 cm², seguido de la crema al 1% con 70,21 cm², la crema al 2% con 67,08 cm² y la crema al 4% con 60,64 cm², estos comportamientos se debe a que las formulaciones tiene diferentes cantidades de agua y extracto atomizados en su composición.

Para determinar la actividad antioxidante se usó el método de decoloración del radical DPPH, que nos da confianza y seguridad en los resultados, ya que se trata de un radical estable y estandarizado.¹⁹ Se trabajó con cremas a concentraciones de 0,5%, 1%, 2% y 4% de extracto atomizado de las hojas de "wayra muña", de las cuales se prepararon diluciones para obtener concentraciones de 1 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml y 100 µg/ml.¹¹

La Figura 2 representa los resultados estadísticos obtenidos mediante la prueba de Duncan, donde se observa que al menos una de las diferentes concentraciones es estadísticamente diferente ($p < 0,05$). Sin embargo, la crema al 2% a una concentración de 50 µg/ml presenta mayor actividad antioxidante por captación de radicales libres (99,4%) respecto a las cremas al 0,5%, 1% y 4% que presentaron un 84,9%, 91% y 95% respectivamente; estas variaciones también se observan en las concentraciones al 1 µg/ml, 25 µg/ml y 100 µg/ml. Además las cremas al 0,5%, 1% y 2% disminuyen su capacidad de captación de radicales libres a una concentración de 100 µg/ml, lo mismo ocurre con la crema al 4% que al contrario de aumentar la actividad antioxidante por contener mayor porcentaje de extracto atomizado disminuye, probablemente debido a la presencia de partículas suspendidas en la muestra que al ser leída en el espectrofotómetro impiden la absorción de la luz.

En conclusión, todos los resultados nos conducen a afirmar que la crema al 2% a una concentración 50 µg/ml elaborado a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña" presenta mayor actividad antioxidante (99,4%).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wang H., Provan J., Helliwell K. Tea flavonoids: their functions utilisation and analysis. Trends in Food Science & Technology. April 2000.
2. Rodas E., López K., Tul Y. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión. Tesis para optar Título de Químico Farmacéutico. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. 2010.
3. Duthie G., Duthie S., Kylea J. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. Nutrition Research Reviews. June 2000.
4. Castañeda B., Ramos E., Ibañez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Revista Horizonte Médico [Revista en línea]. 2008. [Consultado el 25 octubre 2012]; 8(1). Disponible en: http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008_I/Art4_Vol8_N1.pdf
5. Caillet S., Salmiéri S., Lacroix M. Evaluation of free radical scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method. Food chemistry. Volume 95, Issue 1, March 2006.
6. Miranda M., Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de La Habana: Editorial Félix Varela; 2000.
7. Villar del Fresno M. Farmacognosia General. Madrid: Síntesis; 1999.
8. Miranda, M. Métodos de análisis de drogas y extractos. La Habana – Cuba: Universidad de la Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos. 2002.
9. Navarro A. Actividad fotoprotectora de la crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico del propóleo de *Apis mellifera* "abeja" en ratas albinas Holtzman. Tesis para optar Título de Químico Farmacéutico. Ayacucho – Perú: UNSCH. 2010.
10. Rosales A., Betancort J. Evaluación de actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas. España: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 2006.
11. Heberlé G., Araújo M., Magri S. Cosmetic formulations containing blueberry extracts (*Vaccinium myrtillus* L.). Journal of Science and Technology. January 2012.
12. Soto M. Estudio fitoquímico y determinación de la actividad analgésica en diferentes extractos de la *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña". Tesis para optar Título de Químico Farmacéutico. Ayacucho: UNSCH. 1999.
13. Palomino, O. Métodos analíticos para la identificación de Plantas Medicinales. Apuntes del Curso de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI). España. 2001.
14. Molinero M., García M. Formulación magistral: Prácticas de laboratorio. 1º ed. España. Ediciones paraninfo S.A.; 2014.
15. Harry, W. Cosmetología. Madrid – España. Editorial Diaz de Santos S.A.; 1990
16. Rodríguez J. Formulación de una Emulsión Submicrométrica Cosmética para el Tratamiento de la Celulitis. Tesis de Maestría (Ingeniería Química)
17. Oriandini, M. Piel sana y manto ácido. Folia dermatológica del Perú. Lima. 2004.
18. Signorelli I., Isla M. Elaboración de una crema para el uso tópico a base de *Urticaria dioica* L. Revista de Farmacia y Bioanálisis. Vol. 47. Merida – Venezuela. Universidad de los Andes. 2005.
19. Szabo M., Iditoiu C., Chambre D., Lupea A. Improved DPPH Determination for Antioxidant Activity Spectrophotometric Assay. Chem Pap. 2007.