

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



**Actividad antioxidante de la crema elaborada a
base de los compuestos fenólicos aislados de
las flores de *Mutisia acuminata* R&P
"chinchilcoma". Ayacucho, 2013.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

**PRESENTADO POR LA:
Bach. OMONTE QUISPE, AMELIA DIANA
AYACUCHO – PERÚ
2015**

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
R.D.N° 310-FC DE LA S-UNSC-2015
Bach. Amelia Diana OMONTE QUISPE

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro y diez de la tarde del día martes veintinueve del mes de diciembre del año dos mil quince, en el auditorio de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, reunidos los miembros del jurado calificador bajo la presidencia del Mg. Q.F. José Diez Macavilca, Dr.Q.F. Johnny TINCO JAYO (Miembro), Q.F. Juan PANIAGUA SEGOVIA (Secretario) y el Mg. Q.F. Enrique AGUILAR FELICES (Asesor), quienes evaluaron la sustentación de tesis titulada: Actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma". Ayacucho 2013; presentada por la Bach. Amelia Diana OMONTE QUISPE; quien pretende obtener el título profesional de Químico Farmacéutica.

El Presidente luego de verificar los documentos en mesa, invita al sustentante exponer para la exposición de su trabajo de investigación al tiempo reglamentario, Concluida la exposición el Presidente del jurado evaluador invita a los miembros del jurado a formular las preguntas y observaciones

Luego el presidente solicita a la sustentante y al público presente para abandonar el auditorio para la deliberación y la calificación correspondientes en los siguientes rubros:

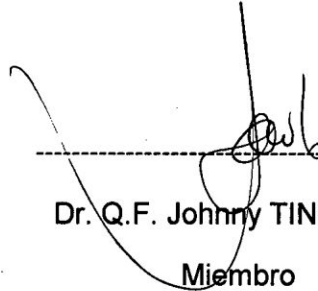
JURADOS	TEXTO	EXPOSICION	RESPUESTA	PROMEDIO
Mg. Q.F. José DIEZ MACAVILCA	17	17	17	17
Dr. Q.F. Johnny TINCO JAYO	17	17	17	17
Q.F. Juan PANIAGUA SEGOVIA	17	17	17	17
Mg. Enrique AGUILAR FELICES	17	17	17	17
PROMEDIO TOTAL				17

De la evaluación realizada, la sustentante obtuvo la nota promedio de DIECISIETE (17) de lo cual dan Fe los miembros del jurado calificador, estampando su firma al pie de la presente acta. Culminando el acto de sustentación a las cinco y treinta de la tarde.



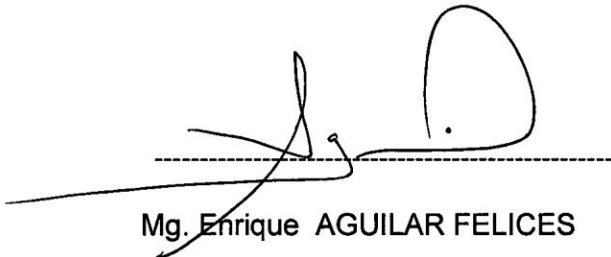
Mg. José DIEZ MACAVILCA

Presidente (e)



Dr. Q.F. Johnny TINCO JAYO

Miembro



Mg. Enrique AGUILAR FELICES

Asesor



Q.F. Juan PANIAGUA SEGOVIA

Secretario

DEDICATORIA

A Dios, a mis padres y mis hermanas.

AGRADECIMIENTO

A mi Alma Mater, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que hicieron posible mi formación profesional.

A mis asesores, Mg. Enrique Aguilar Felices y Roxana León Aronés, por su estímulo y apoyo en la ejecución del presente trabajo de investigación.

A todas las personas que alentaron este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del Problema	3
2.2. <i>Mutisia acuminata</i> R&P “chinchilcoma”	3
2.3. Composición Química	5
2.4. Compuestos Fenólicos	5
2.5. Radicales Libres.	8
2.6. Antioxidantes	9
2.7. Cremas	10
III. MATERIALES Y METODOS	13
3.1. Lugar de Ejecución	13
3.2. Población y muestra	13
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	13
3.3.1. Recolección de muestra	13
3.3.2. Preparación del extracto etanolico	14
3.3.4. Extracción de compuestos fenólicos	14
3.3.6. Aislamiento de compuestos fenólicos	15
3.4. Formulación de la crema	15
3.5. Determinación de la actividad antioxidante de la crema	17
3.5.1. Método de capacidad secuestradora del radical DPPH	17
3.6. Análisis de datos	19
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Fórmula de la crema elaborada a diferentes concentraciones a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.	15
Tabla 2	Características de las reacciones químicas de la fracción de acetato de etilo que contiene los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.	22
Tabla 3	Características cromatograficas de los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P y de los estándares de referencia. Ayacucho, 2013	23
Tabla 4	Características Espectrales de los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013	24
Tabla 5	Parámetros fisicoquímicos de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.	25
Tabla 6	Tipo de emulsión de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.	26

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura de los ácidos benzoicos	6
Figura 2. Estructura de los ácidos cinámicos	7
Figura 3. Núcleo básico de los flavonoides	7
Figura 4. Clasificación de flavonoides	8
Figura 5. Reacción de la forma reducida del DPPH	18
Figura 6. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado a las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.	27
Figura 7. Porcentaje de actividad secuestradora del radical libre DPPH por acción de las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.	28

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de clasificación botánica de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma".	42
Anexo 2. Flujograma del aislamiento de los flavonoides de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma".	43
Anexo 3. Flor de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma"	44
Anexo 4. Recolección y secado de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma"	45
Anexo 5. Concentración de la fracción etanólica de las flores <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma"	46
Anexo 6. Metabolitos secundarios del extracto etanólico de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma".	47
Anexo 7. Desengrasado de la fracción etanólica total con éter de petróleo y extracción líquido – líquido con acetato de etilo de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma"	48
Anexo 8. Pruebas químicas de los compuestos fenólicos aislados	49
Anexo 9. Sembrado en la placa cromatográfica de capa fina 20 x 20 conteniendo silicagel y desarrollo de la cromatografía de la fracción de acetato de etilo aislado de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma"	50
Anexo 10. Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos aislados (I), quercetina (II) ácido caféico (III) revelado con luz ultravioleta	51
Anexo 11. Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos, revelados con cloruro férrico al 5% (I) y DPPH (II)	52
Anexo 12. Elaboración de la crema a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma"	53
Anexo 13. Formulación de las cremas a diferentes concentraciones	54
Anexo 14. Determinación de la extensibilidad y el pH de las cremas	55
Anexo 15. Cromatografía de las fracciones que muestra las fluorescencias de los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma".	56

Anexo 16.	Cromatografía en capa fina preparativa y recuperación de fracciones	57
Anexo 17.	Curva espectral de las fracciones F1, F2 y F3 aislados	58
Anexo 18.	Análisis de Varianza del porcentaje de la actividad secuestradora del DPPH	59
Anexo 19.	Porcentaje de actividad secuestradora del radical DPPH de las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de <i>Mutisia acuminata</i> R&P "chinchilcoma".	60
Anexo 20.	Matriz de consistencia	61

RESUMEN

Los daños dermatológicos por causa de las radiaciones o el envejecimiento son motivo de búsqueda incesante de productos antioxidantes y las plantas son de especial predilección hoy en día. El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma", durante los meses de agosto del 2013 a febrero del 2014. La muestra fue recolectada en el centro poblado de Chuschi, provincia de Cangallo, departamento de Ayacucho, obteniéndose los compuestos fenólicos a partir de un extracto etanólico, con solventes de diferente polaridad, realizándose su identificación mediante ensayos cualitativos, cromatográficas y espectrales, las cuales indican la presencia de isoflavonas. La actividad antioxidante se determinó por el método espectrofotométrico usando el DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), se elaboró las cremas a concentraciones de 0,5; 1 y 2% a base de compuestos fenólicos. Las cremas al 0,5 y 1,0 % fueron de color crema claro y al 2%, mostaza claro, todos de aspecto homogéneo, pH neutro y el tipo de emulsión, O/W. La extensibilidad bajo 500 g de peso ejercido fue: al 1%, con mayor extensibilidad (91,1 cm²), seguida de la crema al 2% (90,3 cm²) y finalmente la de 0,5% (86,1 cm²) ligeramente mayor que la crema base (84,3 cm²), la crema al 2.0% presenta mayor porcentaje de inhibición de radicales libres (99,70%), respecto a las cremas al 1,0% y 0,5% que presentaron porcentajes de 98,6% y 96,1% respectivamente. Sin embargo, todos los porcentajes de inhibición de las cremas al 0,5%, 1,0% y 2,0% son estadísticamente similares ($p > 0,05$). Se concluye que la crema posee características organolépticas óptimas para una crema, y que a diferentes concentraciones las cremas tuvieron actividad antioxidante.

Palabras clave: *Mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma", compuestos fenólicos, antioxidante y radicales libres.

I. INTRODUCCIÓN

El tema de los antioxidantes ha venido adquiriendo importancia singular en los últimos tiempos. Al existir una disminución de los niveles de antioxidantes o una inhibición de las enzimas antioxidantes se desencadena un estrés oxidativo, produciendo un daño celular por la oxidación a macromoléculas como proteínas, lípidos y ácido desoxirribonucleico. Estudios previos correlacionan el estrés oxidativo con la patogénesis de numerosas enfermedades y han demostrado que los antioxidantes desempeñan una función fundamental en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles por lo que es importante el consumo de sustancias antioxidantes no enzimáticas o la innovación de nuevos productos químicos enzimáticos que puedan lograr un efecto positivo en la salud del paciente.^{1,2} Una fuente importante de estas sustancias son las que derivan de productos naturales.³ En este sentido, los flavonoides y ácidos fenólicos se han constituido como importantes sustancias antioxidantes por ser fuertes atrapadores de radicales libres.⁴ Solamente resta transformarlos para su administración en los sistemas biológicos.

De otro lado, la preparación y formulación de los medicamentos se consideró durante muchos años como un arte, y su estudio como disciplina estaba constituido por una gran cantidad de conocimientos empíricos y descriptivos que se han transformado. En la actualidad, es un conjunto de nociones de alto rigor científico y acelerado desarrollo.⁵

Este escenario nos motivó a determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma", como objetivo general. En este cometido, previa revisión de la bibliografía, se siguió técnicas estandarizadas usadas en estudios similares y procedimientos propios de los laboratorios de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.

En este informe, adicionalmente a la determinación de la actividad antioxidante, se describen los procedimientos y resultados de aislar compuestos fenólicos de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma", de formular y elaborar cremas a concentraciones de 0,5, 1 y 2% y de evaluar sus parámetros físico químicos, dando valor agregado así a una especie endémica en nuestra región.⁶ Por todas las consideraciones y con el propósito de generar conocimiento acerca de las propiedades de esta especie, es necesario conocer la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma", para lo cual se plantearon con los siguientes objetivos:

Objetivo General:

- Determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R & P "chinchilcoma".

Objetivos Específicos:

- Aislar los compuestos fenólicos presentes en las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".
- Formular y elaborar las cremas a una concentración de 0.5%, 1% y 2% a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".
- Evaluar los parámetros físico químicos de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".
- Evaluar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" sobre el radical libre del DPPH.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del problema

Muchas especies vegetales han demostrado tener actividad antioxidante tanto *in vivo* como *in vitro* por lo que su interés en desarrollar formas farmacéuticas a base de estos es creciente. Siguiendo esta misma línea de investigación en nuestro medio, por ejemplo, se han desarrollado los siguientes trabajos:

Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay".⁷

Formulación y evaluación de la actividad antiinflamatoria de una crema y gel elaborados a base del extracto atomizado de la corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. "uña de gato".⁸

Evaluación de la actividad antiinflamatoria tópica de hidrogeles elaborados a partir de extractos de *Mutisia acuminata* Ruiz & Pav. "chinchilcoma".⁹

2.2 *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma"

2.2.1 Clasificación taxonómica

DIVISIÓN	:	Magnoliophyta
CLASE	:	Magnoliopsida
SUB CLASE	:	Asteridae
ORDEN	:	Asterales
FAMILIA	:	Asteraceae
GÉNERO	:	Mutisia
ESPECIE	:	<i>Mutisia acuminata</i> R&P
NOMBRE COMÚN	:	"chinchilcoma"

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* (2013) (Anexo 1).

2.2.2 Descripción botánica

Mutisia acuminata Ruiz & Pav. "chinchilcoma" es un arbusto de 60 a 120 cm de altura. Tallo ramoso desde la base, cuyas ramas son flexuosas. Hojas alternas, pinnaticompuestas, peciolo de uno a dos centímetros de largo, raquis o nervadura principal que termina en zarcillo bifido o trifido, limbo 9 a 11 cm de largo, 10 a 14 pares de folíolos lanceolados, acuminados en el ápice, atenuado en la base, haz glabrescente. Inflorescencia en capítulo terminales, solitarios, pedunculados, involucro cilíndrico acompañado, brácteas involucrales, las externas gradualmente más pequeñas y agudas en el ápice, las internas oblongo- lanceoladas. Flores rojo naranjas, las marginales femeninas, corola bilabiada 60 a 70 mm de largo, labio externo desarrollado forma la lígula, labio interno pequeño filiforme; el tubo de la corola 40 a 50 mm de largo por 15 mm de diámetro. Flores del disco hermafroditas bilabiadas 60 a 65 mm de largo total, túbulo 50 a 60 mm de largo y labios 5 a 8 mm de largo, labio externo, trifido, labio interno bifido; anteras apendiculadas en el ápice, sagitadas en la base; estilo bifido, ramas pilosas. Fruto aquenio 7 a 8 por 2 a 3 mm cilíndrico con numerosas cerdas alargadas plumosas.^{10, 11}

2.2.3 Nombres Populares

Chinchilcoma, chinchilcuma, chinchircoma, chinchircuma, chincumpa, checchecta, chinchimani, chinchinmaqui, cinchis, mancopaqui, tinterma, tintilma, chinchilpo, chianchiarko, tintilkuma.⁶

2.2.4 Distribución geográfica

Niveles medios de los andes, principalmente en los valles interandinos del centro y sur del país, en suelos arcillosos, entre los 2000 y 3600 msnm, se desarrolla en bordes rocosos.^{10, 6}

2.2.5 Usos en la medicina tradicional

El cocimiento se usa para el lavado de heridas y en las enfermedades del aparato respiratorio y para curar el reumatismo. Se utiliza como cicatrizante externo y como antiinflamatorio del hígado por la comunidad del Callejón de Huaylas.¹²

2.3 Composición química

Arce y et al. (2010), en el extracto etanólico evidenciaron los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, triterpenos y/o esteroides, alcaloides, compuestos fenólicos.⁹

Lozano (2007), en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia acuminata* R&P, se determinó la presencia de azúcares reductores, taninos y fenoles, aminoácidos libres, flavonoides, glicósidos cardiotónicos, lactonas y/o cumarinas, catequinas y saponinas.¹³

En un trabajo realizado por Juárez y Mendiando (2003), el patrón cromatográfico de flavonoides de *Mutisia acuminata* var. *paucijuga* mostró la presencia de flavonoides como la quercetina, quercetina-3-glucorónido, isorhamnetin-3-glucorónido y pelargonidina diglicosido.¹⁴

Yarleque y col. (2002), aislaron dos flavonoides: 5,3',4'-trihidroxi-7-gli-flavanona y 5,3'-dihidroxi-4-O-metil-7-O-Rh-glucosil flavanona.¹⁵

2.4 Compuestos fenólicos

Son metabolitos secundarios producidas por todas las plantas, un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y que ocurren frecuentemente como glicósidos, combinados con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua; pueden ser detectados por el intenso color verde, azul o negro, que producen cuando se les agrega una solución acuosa o alcohólica al 1% de cloruro férrico.¹⁶

Además estos compuestos fenólicos son utilizados para tratar enfermedades relacionadas con procesos antiinflamatorias y desordenes cardiovasculares debido a la actividad que ejercen sobre el sistema circulatorio, mejorando la circulación periférica, la movilización del colesterol y disminuyendo la fragilidad capilar.¹⁷

Los compuestos fenólicos tienen una gran capacidad antioxidante, considerado la actividad biológica responsable del efecto preventivo sobre algunas enfermedades y el mecanismo por el que actúan reside en su capacidad para captar radicales libres que se pueden generar en las células del cuerpo humano y que son resultado de la combinación de muchos factores ambientales.¹⁸

2.4.1 Clasificación

Los polifenoles se pueden clasificar de muchas maneras debido a su diversidad estructural. Según su estructura química tenemos dos grandes grupos:

No flavonoides

Entre ellos: Ácidos fenoles: derivados del ácido benzoico C6-C1 y derivados del ácido cinámico C6-C3.¹⁹

Flavonoides (C6-C3-C6)

Formados por dos grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado, antocianos, isoflavonas, flavonas, flavononas, flavanoles y flavanonoles, taninos condensados y lignanos.¹⁹

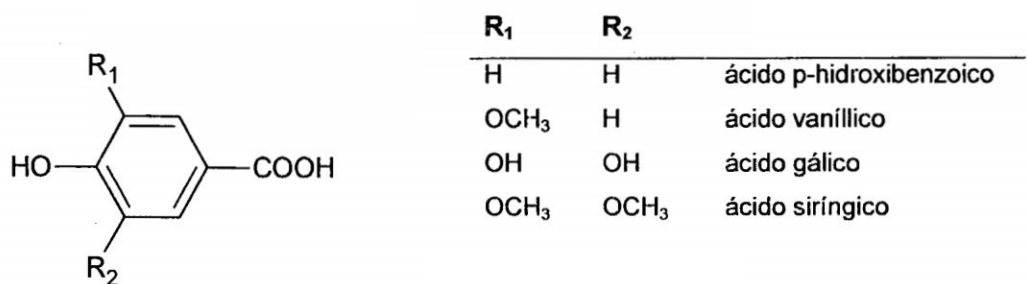
2.4.2 Ácidos fenólicos

Estos compuestos tienen una función carboxílica y un grupo hidroxílico fenólico, estos compuestos derivan del ácido benzoico (anisaldehído, vanillina, ácido β -verátrico, ácido anísico) y del ácido cinámico (cafeico, ferúlico y sináptico).

Las acciones más importantes de los ácidos fenólicos son la actividad antimicrobiana y la actividad antiinflamatoria.²⁰

Los ácidos fenólicos tienen gran importancia debido a su amplia actividad biológica como son: antioxidantes, antivirales, antitumorales, antifúngicos, antimutagénicos, hepatoprotectores, antiinflamatorias e inmunoestimulantes. La actividad antioxidante de los ácidos fenólicos denominados ácidos de serie cinámica son más activos que los derivados hidroxilo del ácido benzoico debido a que poseen grupos OH y carbonilo no unidos directamente al anillo bencénico.¹⁷

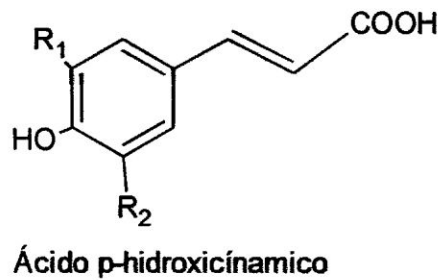
- **Ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico**



Ácido p-hidroxibenzoico

Figura 1. Estructura de los ácidos benzoicos.²⁰

- **Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico**



R ₁	R ₂	
O	H	ácido p-cumárico
OH	H	ácido caféico
OCH ₃	H	ácido ferúlico
OCH ₃	OCH ₃	ácido sináptico

Figura 2. Estructura de los ácidos cinámicos.²⁰

2.4.3 Flavonoides

Son compuestos fenólicos, responsables de la coloración de flores y frutos, están ampliamente extendidos en todo el reino vegetal constituyendo la mayoría de los pigmentos amarillos (flavonas, flavonoles, chalconas, auronas), rojos y azules (antocianos). Los flavonoides comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C₆ – C₃ – C₆), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los anillos del B desde el 2' al 6', poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorales, antiasmáticas.^{16, 21}

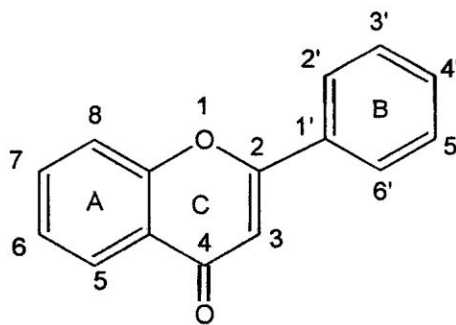


Figura 3. Núcleo básico de los flavonoides.¹⁶

2.4.4.1 Clasificación

Los flavonoides se clasifican en varios grupos de acuerdo con las variantes estructurales que presentan: flavonas, flavonoles, flavanoles, isoflavonas y antocianidinas como se muestra en la figura.

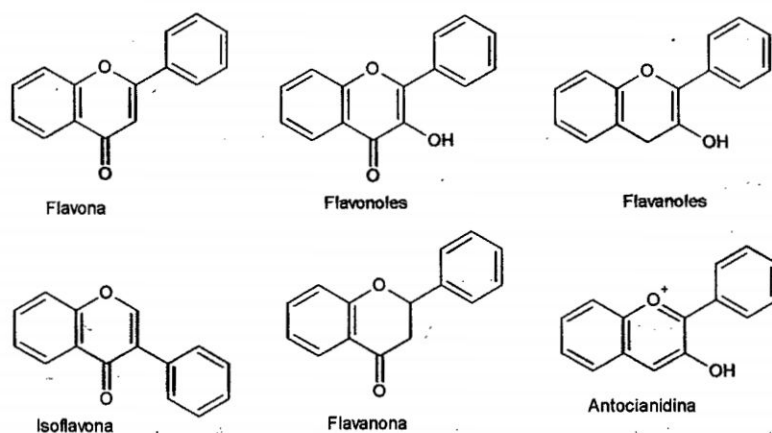


Figura 4. Clasificación de flavonoides.¹⁶

2.4.4.2 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, inhibir la lipoxigenasa y captar radicales libres, aunque en ocasiones también pueden promover reacciones de oxidación *in vitro*.²³ Todos tienen en su estructura uno o más anillos aromáticos con al menos un sustituyente hidroxilo. Su estructura química es propicia para secuestrar radicales libres, debido a la facilidad con la que el átomo de hidrógeno desde el grupo hidroxilo aromático puede ser donado a la especie radical, y a la estabilidad de la estructura química resultante que soporta un electrón desapareado. La actividad antioxidante de los polifenoles depende del número y la localización de los grupos hidroxilo que contienen en su estructura.²⁴

Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir dos condiciones básicas:

- Cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va a ser oxidado pueda retrasar o prevenir la autooxidación o la oxidación mediada por un radical libre.
- El radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores.²³

2.5 Radicales libres

Se consideran radicales libres (RL) a aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo. Esta

configuración espacial las hace muy inestable, extraordinariamente reactivos y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse con la mayoría de las biomoléculas celulares (carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos) provocando un gran daño en ellas y en las membranas celulares.²⁵

Los radicales libres cumplen numerosas funciones útiles en el organismo (de hecho, nuestro propio cuerpo las 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.²⁶

2.5.1 Clasificación de radicales libres

2.5.1.1. Radicales libres inorgánicos o primarios

Se originan por la transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados de reducción de este y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidroxilo y el óxido nítrico.²⁷

2.5.1.2. Radicales libres orgánicos o secundarios

Se generan por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de dos radicales primarios entre sí, tienen una vida media más prolongada que los primarios.²⁷

2.5.1.3. Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno

Se incluye el grupo de especies químicas que sin ser radicales libres, son generadas de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, e hidroperóxidos orgánicos.²⁷

2.6. Antioxidantes

Los antioxidantes son un grupo de moléculas reconocida por su capacidad para neutralizar los radicales libres, estas sustancias han surgido como una alternativa para combatir las deficiencias asociadas al estrés oxidativo.³

Los antioxidantes son sustancias que retardan el comienzo o disminuyen la velocidad de oxidación de los materiales oxidables. Bajo condiciones fisiológicas, el organismo puede prevenir el daño producido por las especies oxidantes, a

través de mecanismos de protección que incluye elevar los niveles intracelulares de defensas antioxidantes.²⁸

2.6.1. Antioxidantes endógenos

Son los sistemas antioxidantes que se producen dentro del organismo para combatir la acción de los radicales libres. Se clasifican en enzimáticos (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa) y no enzimáticos (glutatión, melatonina, estrógenos, ácido úrico, albumina.^{27, 29}

2.6.2. Antioxidantes exógenos

Útiles cuando el sistema endógeno se satura, capturan los radicales libres evitando la reacción en cadena, este proceso se obtiene mediante la dieta. Dentro de estos antioxidantes encontramos a la vitamina C, Vitamina E, Carotenoides y compuestos fenólicos.³⁰

2.7. Cremas

Son formas farmacéuticas bifásicas constituidas por dos fases, una lipófila y otra acuosa. Son de dos tipos, cremas hidrófobas y cremas hidrófilas.³¹

2.7.1. Hidrófobas

La fase continúa o externa es la fase lipófila debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo W/O, Ejemplo: cremas refrescantes.³¹

2.7.2. Hidrófilas

La fase externa es de naturaleza acuosa debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo OW, tales como jabones sódicos o trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados y polisorbatos, a veces combinados en proporciones convenientes con emulgentes tipo W/O. Ejemplo: cremas evanescentes. Las cremas son emulsiones formadas por mezclas de dos fases insolubles entre sí, una soluble en agua y otra en grasas. La emulsión se encuentra estable a la temperatura ambiente cuando se le agrega un agente emulsificante y se obtiene una mezcla homogénea al agitarse por lo que así se puede incorporar una fase en la otra a la temperatura mayor que el punto de fusión de cada fase.³¹

Como resultado de los avances producidos en la química sintética para cosméticos el formulador de una base para emulsión puede verse enfrentado a una cantidad enorme de opciones. Por fortuna, la base de emulsión puede ser

subdividida en tres partes componentes que se denominan fase oleosa, emulsiva (o emulsionante) y fase acuosa. El agente medicinal puede ser incluido en una de estas fases o agregado a la emulsión ya formada.³²

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo de Investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Farmacognosia del Área académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de agosto del 2013 a febrero del 2014.

3.2 Población y muestra

3.2.1. Población

Flores secas de *Mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma" que crecen en el distrito de Chuschi, provincia de Cangallo, Departamento de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

Dos Kilogramos de Flores de *Mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma"

3.2.3. Tipo de Estudio

Básico - Experimental

3.2.4. Unidad de análisis

La crema a diferentes concentraciones de 0,5%, 1,0% y 2,0%

3.3 Diseño Metodológico para la recolección de datos

3.3.1 Recolección de Muestra

Se recolectó las flores frescas e intactas en los alrededores del distrito de Chuschi, se colectó las flores no dañadas en horas de la mañana, se lavó con abundante agua y se secó a sombra, en una habitación ventilada sobre papel periódico, aproximadamente por una semana, para su posterior reducción de

tamaño e partículas. Una parte de la planta con hojas y flores fue llevada al *Herbarium Huamanquensis* de la UNSCH para la clasificación taxonómica.²⁰

3.3.2 Preparación del extracto etanólico total

Se utilizó dos kg de flores secas, luego se realizó la molienda en un mortero de porcelana, el material molido se llevó a maceración en un frasco de color ámbar por un periodo de una semana en nueve litros de alcohol de 96 cuyo volumen cubrió la muestra. Durante el proceso se agito mecánicamente el frasco para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se procedió a la filtración del macerado a través del filtro al vacío utilizando papel Whatman N 40, luego se llevó a concentrar a sequedad en un rotavapor rotatorio BUCHI 3000, y luego en una estufa a 40C, hasta obtener un extracto seco.

3.3.3 Extracción de los compuestos fenólicos

El extracto etanólico seco se reconstituyó con agua destilada y se trató con éter de petróleo con la finalidad de eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos que puedan interferir con la extracción de compuestos fenólicos.

La extracción líquido-líquido con acetato de etilo se hizo utilizando un embudo de separación, para recuperar finalmente la fracción de acetato de etilo y evaporarla a sequedad (fracción flavónica).³³

3.3.4 Reacción de cloruro férrico

Se añadió unas gotas de cloruro férrico 1%, sobre la fracción de acetato de etilo y se observó una coloración verde que demostró la presencia de compuestos fenólicos.¹⁶

3.3.5. Cromatografía en capa fina (CCF)

- La fracción de acetato de etilo se disolvió en 0,5 mL de metanol y mediante un capilar de vidrio se aplicó en la parte inferior de la placa cromatográfica previamente activada (fase estacionaria)
- Se utilizó como sistema de solventes BAW (butanol, ácido acético y agua) en la proporción de 4:1:5
- Se colocó la placa en la cámara teniendo cuidado que el solvente no sobrepase la muestra aplicada y dejando que el líquido ascienda por capilaridad.
- Se retiró la placa cromatográfica de la cámara cuando el eluyente llegó a dos centímetros de la parte superior de la placa (frente del solvente).
- Se dejó secar al aire libre y se observó en la lámpara UV.

- Se reveló con cloruro férrico al 1%.
- Se observó la presencia de manchas.³³

3.3.6 Aislamiento de los compuestos fenólicos

Sistema cromatográfico:

- Fase estacionaria: Placa cromatográfica 20 x 5 conteniendo Silicagel G 254 (Merck)
- Fase móvil: Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)

La siembra de la fracción de acetato de etilo se realizó en bandas con el propósito de aislar los compuestos fenólicos, los cuales se evidenciaron en la luz ultravioleta. Estas bandas fueron recuperados, disueltos en metanol y filtrados, obteniéndose tres bandas.

Pruebas espectrales

Las bandas obtenidas fueron leídas en el espectrofotómetro ultravioleta GENESYS 6, en el rango de 200 a 500 nm, registrándose los máximos picos de absorción.

3.4. Formulación de la crema a ensayar (Laboratorios farmacéuticos Markos)

Tabla 1. Fórmula de la crema elaborada a diferentes concentraciones a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" Ayacucho – 2013

Principio activo y excipientes	Concentración			
	0,5%	1,0%	2,0%	Crema Base
Extracto de <i>Mutisia acuminata</i> R&P. "chinchilcoma", 0,5 (g).	0.15			
Extracto de <i>Mutisia acuminata</i> R&P. "chinchilcoma" 1 (g).		0.30		
Extracto de <i>Mutisia acuminata</i> R&P. "chinchilcoma" 2 (g).			0.60	
Metilparabeno (g).	0.0038	0.0038	0.0038	0.0038
Propilparabeno (g).	0.0023	0.0023	0.0023	0.0023
Lanette N (g).	3.0	3.0	3.0	3.0
Alcohol Cetílico (g).	0.3	0.3	0.3	0.3
Propilenglicol (g).	0.6	0.6	0.6	0.6
Vaselina Liquida (g).	1.5	1.5	1.5	1.5
Agua Purificada c.s.p.	30.00	30.00	30.00	30.00

3.4.1. Elaboración de la crema en ensayo

3.4.1.1. Formación de la fase oleosa

Se colocó en un recipiente de acero inoxidable provista de baño maría: vaselina líquida, alcohol cetílico y lanette N, se fundió a 70°C bajo agitación moderada.³⁴

3.4.1.2. Formación de la fase acuosa

En un recipiente adecuado de acero inoxidable provista de baño maría se colocó agua purificada y se calentó a 70-75°C, luego se agregó propilenglicol, metilparabeno y propilparabeno, se agito hasta dilución completa.

En un recipiente adecuado de vidrio se cargó agua purificada, y se agregó bajo agitación moderada el compuesto fenólico aislado de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" hasta disolución completa.

3.4.1.3. Formación de la emulsión final

Una vez que los ingredientes estén 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.

Se apagó las fuentes de calor y se dejó que la temperatura descienda normalmente mientras se continuó agitando constantemente.

La emulsión formada se caracteriza por ser blanca y fluida, se verifico el pH (entre 5,0 a 7,5).

Se verifico el peso final, se dejó en reposo hasta su enfriamiento en su ambiente aséptico. Una vez verificado los controles y ensayos, se envaso en un ambiente aséptico en envases previamente sanitizados.^{34, 35}

3.4.2. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de las cremas

3.4.2.1. Determinación de las características organolépticas

Se determinaron las características organolépticas de las cremas siguiendo los procedimientos descritos.³⁴ en la evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcoholico de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma"

3.4.2.2. Determinación de pH

Para determinar el pH se siguió el método de Fiedler, se tomó 5 a 10 g de crema en un vaso precipitado y luego se llevó a baño maría, se fundió la muestra y se le agrego 30 ml de agua bidestilada a pH 7, se calentó a 70 °C, se mezcló bien

hasta la formación de dos fases, se filtró la fase acuosa y se determinó el pH del filtrado.³⁴

3.4.2.3. Determinación del tipo 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 5 mL de vaselina líquida o alcohol, se mezcló y se observó.

3.4.2.4. Determinación del índice de extensibilidad

Para realizar este ensayo se utilizó dos placas de cristal (10 X 10 cm) en las cuales se colocaron una cantidad de 2 g y se trabajó a una temperatura de ± 0.5 °C.

Se colocó la placa inferior de cristal sobre una hoja de papel milimetrado, se recuadro la placa y se trazaron las diagonales, se colocó la muestra del preparado sobre el punto de intersección.

Se pesó la placa superior y se coloca sobre la inferior, pasado un determinado tiempo por el efecto de la presión la muestra se extiende de forma circular.

Se anotó los valores de los dos diámetros y se calculó el diámetro medio y a partir de este, se calculó la superficie del círculo formado.

Se representó la extensibilidad en mm^2 (área = $n(d/2)^2$) frente a los pesos empleados.

3.5. Determinación de la actividad antioxidante de la crema elaborada

3.5.1. Método de la capacidad secuestradora del radical DPPH

Fundamento: El radical libre y estable DPPH, es una sustancia que mide la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidativa. Se caracteriza como un radical libre estable en virtud de la deslocalización del electrón libre en toda la molécula, de manera que las moléculas no dimerisen, como en el caso de la mayoría de otros radicales libres. La deslocalización también da lugar a un color violeta oscuro, que se caracteriza por una banda de absorción en solución de etanol a aproximadamente 520 nm. Cuando una solución de DPPH se mezcla con la de una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno, entonces esto da lugar a la forma reducida con la pérdida de este color violeta.³⁶

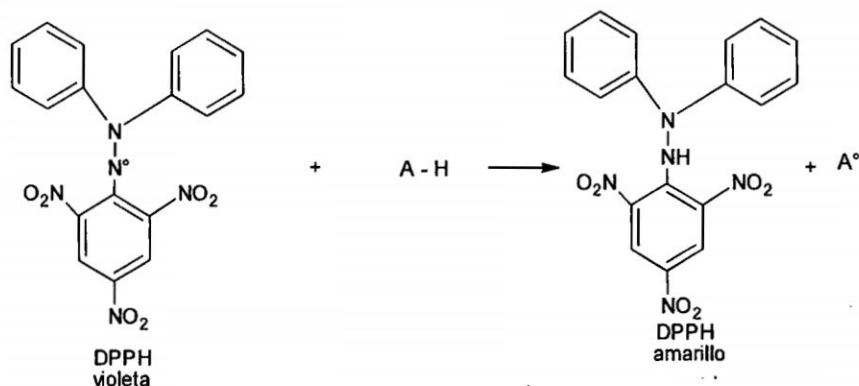


Figura 5. Reacción de la forma reducida del DPPH.³⁶

Preparación del DPPH

Se pesó 5 mg de DPPH en una fiola de 250 mL la cual se aforo con metanol, obteniendo una concentración de 50 ug/mL.

Preparación de la Muestra

De las cremas formuladas al 0.5, 1, 2 %, se pesó un gramo de cada una de ellas en un vaso precipitado y se agregó 25 mL de metanol, se filtró y se preparó diluciones para obtener concentraciones de 100, 50, 10 ug/mL. Una vez preparadas las diluciones se tomaron de cada una de ellas 3 mL y se le adicionó 1 mL de solución de DPPH las cuales se agitaron vigorosamente y se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente por 5 min, transcurrido el tiempo se procedió a leer la Absorbancia a 517 nm.

Preparación del blanco

Se pesó un gramo de crema base, en un vaso precipitado se le agrego 25 mL de metanol y se filtró, luego se realizó diluciones para obtener concentraciones de 100, 50, 25 ug/mL. Una vez preparada las diluciones se tomaron de cada una de ellas 3 mL y se le adiciono 1 mL de solución de DPPH las cuales se agitaron y se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente por 5 min, transcurrido el tiempo se procedió a leer la Absorbancia a 517 nm.

Los ensayos se realizaron por triplicado para cada formulación de la crema y se empleó un total de 48 tubos de ensayo.³⁸

La capacidad de las cremas para reducir los radicales libres se calcularon con la siguiente ecuación:

$$AA\% = \frac{Ac - Am - Ab}{Ac} \times 100$$

Dónde:

AA%: porcentaje de actividad antioxidante.

Ac: Absorbancia del control.

Am: Absorbancia de la muestra.

Ab: Absorbancia del blanco

3.6. Análisis de datos

Los resultados de la actividad antioxidante se representaron en forma de gráficos en función de las medias. Las diferencias entre las medias fueron contrastadas mediante el Análisis de Varianza Factorial (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Características de las reacciones químicas de la fracción de acetato de etilo que contiene los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P “chinchilcoma”. Ayacucho - 2013

Fracción	Prueba de FeCl ₃ 5%	Prueba de KMnO ₄	DPPH	Características		
				FeCl ₃	KMnO ₄	DPPH
Acetato de etilo	+++	+++	+++	verde oscuro	decolora, precipita	Decolora

Leyenda:

(+++) : Abundante

Tabla 3. Características cromatográficas de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".y de los estándares de referencia. Ayacucho - 2013

Fracción	Revelador		
	Fluorescencia	FeCl ₃	DPPH
Acetato de etilo	Azul – purpura	Marrón	Amarillo
Ac. Caféico*	Celeste	Marrón	Amarillo
Quercetina*	Amarillo	Marrón	Amarillo

* estándares de referencia

Tabla 4. Características espectrales de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma". Ayacucho - 2013

Fracción	Sub-fracciones	Ultravioleta (nm)
Acetato de etilo	F1 (amarillo - verdoso)	209 nm.
	F2 (anaranjado)	209 nm y 288 nm
	F3 (violeta - purpura)	209 nm y 297nm
Estándar ácido benzoico	-	230 nm y 270 nm

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" Ayacucho, 2013.

Parámetro	Ensayo	Fórmula	Resultado
Organolépticos	Color	crema 0,5%	crema - claro
		crema 1,0%	crema - claro
		crema 2,0%	mostaza claro
		crema base	blanco nieve
	Olor	crema	inodoro
	Sabor	crema	amargo
	Aspecto	crema	homogéneo
	pH		crema base
		crema 0,5%	7,9
		crema 1,0%	7,6
		crema 2,0%	7,4

Tabla 6. Tipo de emulsión de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata*. R&P “chinchilcoma”. Ayacucho, 2013.

Método	Solvente	Resultados
Dilución	Agua purificada	Homogéneo Soluble (emulsión O/W)
	Alcohol etílico	Heterogéneo Insoluble

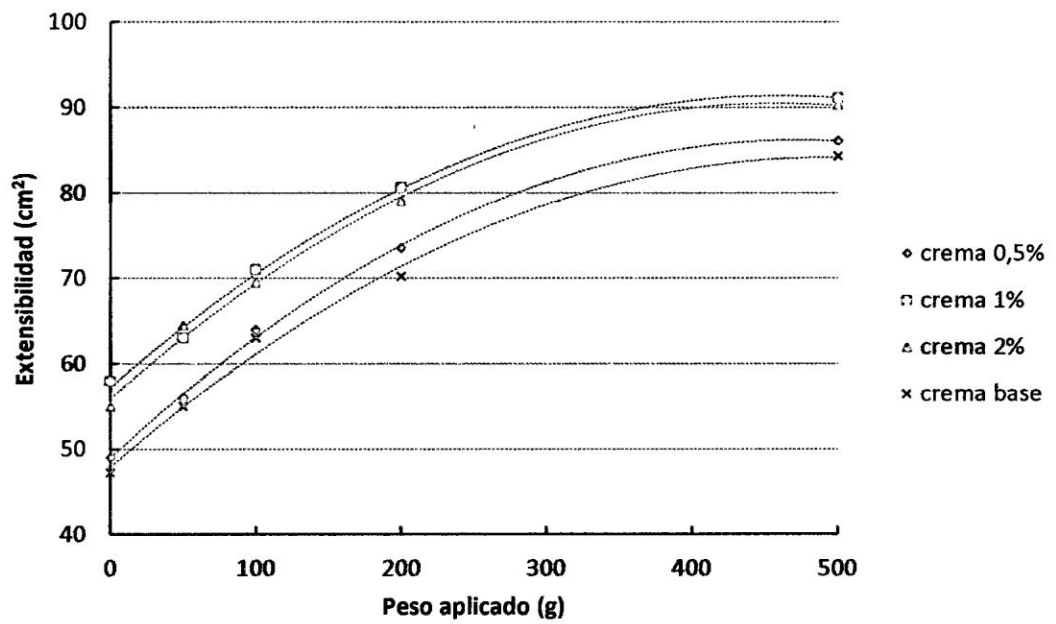


Figura 6. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado a las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata*. R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.

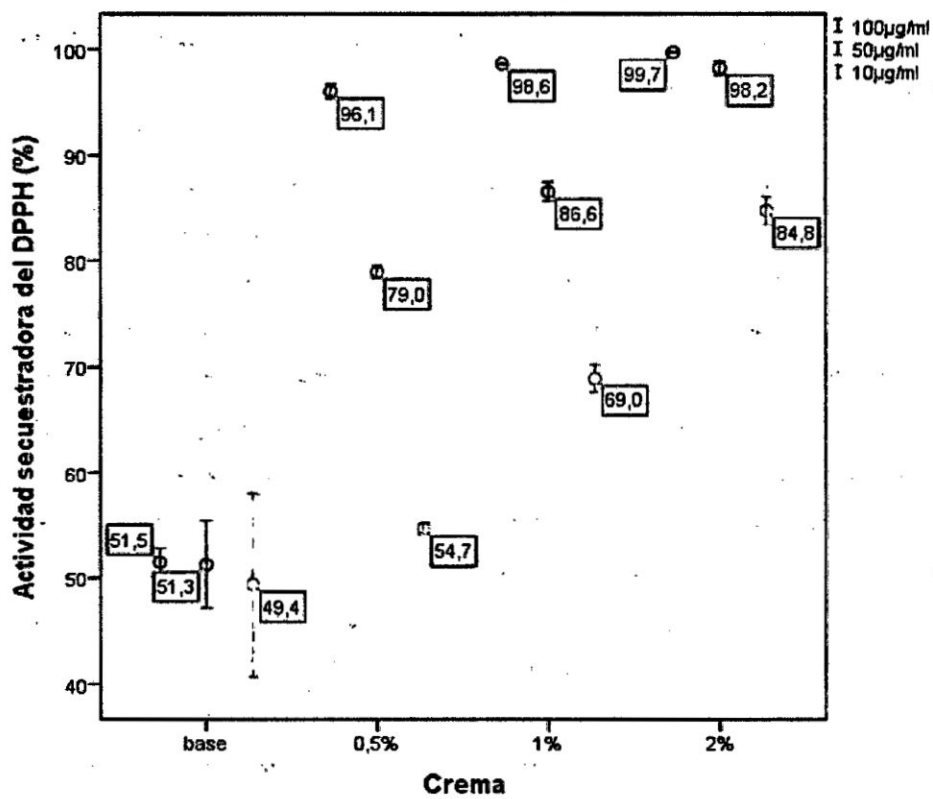


Figura 7. Porcentaje de actividad secuestradora del radical libre DPPH por acción de las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata*. R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.

V. DISCUSIÓN

Las flores de *Mutisia acuminata*. R&P “chinchilcoma” fueron recolectadas del distrito de Chuschi, provincia de Cangallo, región Ayacucho.

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, generalmente constituidos por mezclas de compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica, como los compuestos fenólicos, los que tienen gran capacidad antioxidante. Dentro de esta gran familia pueden encontrarse tres grupos principales: los ácidos fenólicos, los polifenoles y los flavonoides, siendo estos últimos el grupo más común. La finalidad o mecanismo de estos compuestos reside en su capacidad para captar los radicales libres que se pueden generar en las células del cuerpo humano y que son resultado de la combinación de muchos factores ambientales, incluida la contaminación atmosférica.³⁹

En las pruebas químicas realizadas de los compuestos fenólicos aislados (tabla 2) fueron diferenciados por las pruebas de cloruro férrico al 5%, con KMnO_4 y DPPH, en la prueba química con FeCl_3 al 5% se produjo un color verde oscuro identificándose presencia de grupos fenólicos en abundante concentración. La prueba química con KMnO_4 produce un cambio de coloración y un precipitado intenso, este cambio de coloración del KMnO_4 se debe a que esta se reduce debido a la acción de los compuestos fenólicos.²⁰ En la prueba química con DPPH se observa la decoloración del radical libre, esto debido a que el radical libre tiene un electrón desapareado y es de color violeta decolorándose a amarillo cuando reacciona con los compuestos fenólicos que pueden donar un átomo de hidrógeno.^{3,37} Dado que todas las reacciones son positivas podemos afirmar que los compuestos aislados de las flores de *Mutisia acuminata*. R&P “chinchilcoma” tienen propiedades antioxidantes.

En la tabla 3, se observa la presencia de fluorescencia de color azul-púrpura a la luz del espectro ultravioleta, de lo cual se deduce que se trata de un compuesto

fenólico, cuando se revela la misma placa con cloruro férrico al 1% y DPPH (Anexo 11 y anexo 12), se observan manchas de color marrón y amarillo a la luz visible. Esta mancha de color purpura a la luz UV indica que se trata de los compuestos fenólicos.¹⁶ Estudios realizados en *Mutisia acuminata* se determinó la presencia de flavonoides como la quercetina, quercetina-3-glucoronido, isorhamnetin-3-glucoronido y pelargonidina diglicosido, también se determinó la presencia de dos flavonoides: 5,3',4'-trihidroxi-7-gli-flavanona y 5,3'-dihidroxi-4-O-metil-7-O-Rh-glucosil flavanona.^{14, 15}

Para la caracterización de los compuestos fenólicos se utilizó la espectroscopia ultravioleta, lográndose separar tres bandas a partir de la fracción de acetato de etilo (F1, F2 y F3) (Tabla 6 y Anexo 17). La fracción F1 corresponde a un compuesto fenólico con una fluorescencia amarillo - verdoso y muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 209 nm, la fracción F2 corresponde a un compuesto fenólico con una fluorescencia anaranjada y muestra una absorbancia de 209 y 288 nm, la fracción F3 corresponde a otro compuesto fenólico con una fluorescencia violeta - purpura y muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 209 - 297 nm,

El estándar utilizado fue ácido benzoico con una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 230 270 nm. Por lo tanto podemos asumir que en la fracción F2 se trata de un derivado de los flavonoides que viene a ser las isoflavonas (Anexo 17).

La piel constituye el tegumento externo del organismo, cumple diferentes funciones como: protectora, intercambio acuoso y térmico con el medio externo, síntesis de vitamina D, entre otras; por lo que su protección es de vital importancia para el mantenimiento del organismo como un todo.⁴⁰ En este sentido, es de suponer que el desarrollo de formas farmacéuticas dermatológicas antioxidantes efectivas adquiere relevancia para la industria farmacéutica y que el desarrollo de cremas dermatológicas como las cremas, debe tener en consideración ciertos parámetros físicos y químicos especificados en los libros oficiales los que ofrezcan características farmacotécnicas adecuadas. En nuestro trabajo este aspecto se ve reflejado en las características organolépticas resultantes (Tabla 5); el color de las cremas, por ejemplo, dependen de la concentración de los compuestos fenólicos de las flores de "chinchilcoma" incorporados: la crema base es de color blanco nieve; la crema al 0,5 y 1,0 %, presentan un color crema claro, mientras que la crema al 2%, mostaza claro. El

olor graso es característico a todas las cremas debido a que dentro de la fórmula se encuentran la vaselina líquida y el alcohol cetílico. Tienen, además un aspecto homogéneo lo cual es indicador de la buena compatibilidad existente entre los compuestos fenólicos de las flores de "chinchilcoma" y los excipientes empleados.

Otra característica importante es el pH de la crema (Tabla 5). La crema base tiene un pH prácticamente neutro equivalente a 7,1; lo mismo que las cremas elaboradas a diferentes concentraciones, que tienen pH prácticamente neutro.

En la Tabla 6, se muestra el tipo de emulsión de las cremas elaboradas. Como resultado de las pruebas de dilución las cremas fueron insolubles en etanol, pero solubles en agua al mismo tiempo que adopta un aspecto homogéneo, por lo que se puede concluir que se trata de una emulsión O/W, es decir, de fase externa acuosa. Estos resultados se pueden contrastar con los obtenidos por Vicuña.⁴¹

En la Figura 6, se muestra la extensibilidad de las cremas formuladas a base de compuestos fenólicos de las flores de "chinchilcoma". La caracterización reológica es fundamental en la investigación y desarrollo de formas farmacéuticas semisólidas como las cremas, debido a que las propiedades reológicas tienen una gran influencia en la estabilidad y en la textura de estos productos. En este estudio se consideran las determinaciones de extensibilidad y viscosidad debido a la relación existente entre estos parámetros para definir dicho comportamiento.⁴²

También se puede apreciar que la extensibilidad es directamente proporcional al peso aplicado hasta llegar a un punto donde la extensibilidad se hace constante. La Figura muestra que, sometida a 500g de peso, la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos de las flores de "chinchilcoma" a una concentración de 1% tiene mayor extensibilidad ($91,1\text{cm}^2$), seguida de la crema al 2% ($90,3\text{cm}^2$) y finalmente la de 0,5% ($86,1\text{cm}^2$) ligeramente mayor que la crema base ($84,3\text{cm}^2$).

Para la determinación de la actividad antioxidante de las cremas elaboradas se siguió el método de decoloración del DPPH, procedimiento estandarizado y de alta fiabilidad. Dado que existe un creciente interés en antioxidantes, particularmente en los destinados a impedir los efectos nocivos de los radicales libres en el cuerpo humano y la preferencia por los antioxidantes de origen natural, paralelamente aumenta también el uso de métodos para la estimación

de la eficiencia de sustancias tales como antioxidantes. Uno de los métodos es el actualmente popular basado en el uso del radical libre estable difenilpicrilhidrazilo (DPPH).³⁶

Se sometió a evaluación tres concentraciones, 0,5, 1 y 2%, de cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos de las flores de *Mutisia acuminata*. R&P "chinchilcoma", a partir de las cuales, mediante diluciones, se preparó concentraciones de 100, 50, y 10 µg/mL.³⁸

La Figura 7, nos muestra gráficamente el porcentaje de actividad secuestradora del radical libre DPPH por acción de las cremas. Es notorio el poder antioxidante de la crema: todas las concentraciones tienen actividad antioxidante mayor al 50% incluso la de menor concentración. Es evidente que los compuestos fenólicos aislados que se incorporó a las cremas son desde el punto de vista químico potentes antioxidantes, los mismos que corresponderían al grupo de los flavonoides ya que son cuantitativamente más abundantes e importantes dentro de los compuestos fenólicos en general.

Los flavonoides son moléculas cuya actividad antioxidante ha sido demostrada ampliamente tanto *in vivo* como *in vitro*.

Las características cromatográficas (Anexo 4) y espectrales de los compuestos fenólicos aislados parecen ser coincidentes con los encontrados en otro estudio similar con la misma especie.¹⁴

Del mismo modo, el extracto acuoso de *Sanicula graveolens* (Apiaceae) y *Mutisia friesiana* (Asteraceae) mostraron actividad de captación de radicales en el ensayo de decoloración del DPPH. El aislamiento guiado por bioensayo condujo a derivados del ácido cafeico y flavonoides como los principales compuestos activos de ambas especies. Después de la hidrólisis, ácido cafeico y quercetina demostraron ser los principios bioactivos de ambas plantas.⁴³

VI. CONCLUSIONES

1. Se aisló los compuestos fenólicos de las flores de *Mutisia acuminata* R&P “
2. Se elaboró y se formuló las cremas a concentraciones de 0.5%, 1.0% y 2.0% respectivamente.
3. Las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P “chinchilcoma” cumplen con los parámetros establecidos para una forma farmacéutica semisólida,
4. Las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P “chinchilcoma” a las concentraciones de 0,5, 1 y 2 %, tienen actividad antioxidante, directamente proporcional a la concentración de compuestos fenólicos, donde la crema a diluciones de 100, 50, y 10 µg/mL, se obtuvo un porcentaje de 99.7, 98.2 y 84.8 % respectivamente, por lo tanto la crema concentrada al 2% tiene mayor actividad antioxidante.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con los estudios de la actividad antioxidante *in vivo* (antifotoenvejecimiento) de las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".
2. Realizar estudios de estabilidad térmica y clínicos de las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma", dado que en ellas se encontró una alta actividad antioxidante.
3. Realizar estudios de toxicidad aguda y crónica de las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".

VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. López A; Fernando C, Lazarova Z, Bañuelos R, Sánchez S. Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. Revista Anacem. [revista en internet] junio 2012. [acceso marzo 2013]; Vol. 6(1): 48-58. Disponible en: <http://revista.anacem.cl/web/?p=1096>
2. Lampe J. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. Am J Clin Nutr. [revista en internet] 1999. [acceso marzo 2013]: 70(3):475S-490S. disponible en: <http://ajcn.nutrition.org/content/70/3/475s.full>
3. Castañeda E, Ramos E, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Horizonte Médico [revista en internet]. 2008 [acceso febrero de 2013]; Vol. 8 N°1. Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008-I/Art4-Vol8-N1.pdf>.
4. Zavaleta J, Muñoz A, Blanco T; Alvarado C, Loja B. Capacidad Antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Revista Horizonte Médico. [revista en internet] 2005. [acceso marzo 2013] 2(5):29-38. Disponible en http://www.revistasacademicas.usmp.edu.pe/_uploads/articulos/f1a59-18-capacidad-antioxidante-y-principales-acidos-fenolicos-y-flavonoides-de-algunos-alimentos.pdf
5. Vila J. Tecnología Farmacéutica. Volumen II (Formas Farmacéuticas). 1ra Reimpresión. Edit. Síntesis S.A. Madrid – España. [revista en internet] 2001. [acceso marzo 2013]. Disponible en: <http://www.firp.ula.ve/archivos/tesis/04-MS-Rodriguez-jpdf>
6. Pietrellini, F. Plantas medicinales en un piso alto y mesoandino. Estudio etnobotánico de la zona de Puquio-Ayacucho. Ayacucho: Editorial Graticenter; 2007.
7. Del Solar, D. Actividad de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". [Tesis de Pregrado]. Ayacucho: UNSCH. 2012
8. Paniagua J, y col. Formulación y evaluación de la actividad antiinflamatoria de una crema y gel elaborados a base del extracto atomizado de la corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. "uña de gato". Farmacia e Investigación. 2008.
9. Arce P, Cárdenas A, De la Rosa S, Oriundo K. Actividad antiinflamatoria tópica de hidrogeles elaborados a partir de extractos de *Mutisia acuminata* R& P "chinchilcoma". Rev. de encuentro Científico Internacional de verano Ica – Perú. Unica [revista en internet] 2010. [acceso marzo 2013] Lima. Disponible en: <http://www.encuentrocientificointernacional.org/ECI20/ECi2010resumenes.htm>.
10. Loja B. Contribución al estudio florístico de la provincia de Concepción (Junín): Dicotiledóneas. [Tesis Posgrado]. Lima: UNMSM; 2002.
11. Tovar O. Plantas medicinales del Valle del Mantaro Lima: CONCYTEC; 2001.
12. Hammond G, Fernández I, Villegas L, Vaisberg A. Survey of traditional medicinal plants from the Callejón de Huaylas, Department of Ancash, Peru. Journal of Ethnopharmacology [revista en internet] 1998. [acceso abril 2013] 61: 17–30. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.504.9218&rep=rep1&type=pdf>
13. Lozano J. Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" en ratas. [Tesis Pregrado]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2007.

14. Juárez B, Mendiondo M. Flavonoids from *Mutisia acuminata*. *Pharmaceutical Biology* [revista en internet]. 2003 [acceso marzo 2013]; 41(4):291-292. Disponible en: <http://www.encognitive.com/files/Flavonoids20from%20Mutisia%20acuminata>.
15. Yarlequé M, Bonilla P, Rueda L. Aislamiento de dos flavonoides de *Mutisia acuminata* "chinchilcoma" y su efecto sobre el plasma humano. *Anales de la Facultad de Medicina de la UNMSM* [artículo en internet] 2002. [acceso marzo 2013]; 63. Disponible en: <http://sisb.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v63sup/pdf/investigacionbasica.pdf>
16. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de los productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da Edición. Fondo Editorial; 1994.
17. Soler Cantero A. Estudio de la capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. Primeras etapas en el desarrollo de un aceite de oliva funcional [tesis doctoral]. Universidad de Lleida; 2009.
18. Echavarría B, Franco A, Martínez A. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de Macroalgas del Caribe de Colombia. *VITAE, Rev. de la Facultad de Química Farmacéutica* [revista en internet] 2009. [acceso marzo 2013]; 16(1): 126-131. Disponible en: <https://www.cenam.mx/simposio2009/sm2009/compuestosfenolicos/M2/SM2009-M220-1108.pdf>
19. Gimeno E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM, ámbito Farmacéutico nutrición* [revista en internet] 2004. [acceso febrero 2013]; 23(6). Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet_f=10&pident_articulo=13063508&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v23n06a13063508pdf001.pdf
20. Villar del Fresno A. *Farmacognosia General*. Barcelona: Editorial Síntesis. 1999.
21. Bruneton J. *Plantas medicinales. Fitoquímica y Farmacognosia*. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza-España. 2001
22. Frankel E. Oxidación lipídica y evaluación de antioxidantes. Universidad de California. Davis EE.UU. Editado por Franco D. y Moure A. (2010). En *antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicología y aplicaciones industriales*. Santiago de Compostela: Gráficas Garabal S.L. 2005.
23. González J. Caracterización de compuestos fenólicos presentes en la semilla y aceite de chía (*Salvia Hispanica* L.), mediante electroforesis capilar. [tesis maestría]. México, D. F. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Instituto Politécnico Nacional 2010.
24. Inocente C. Actividad antioxidante y antimicrobiana de los compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de la corteza de *triplaris americana* L. (tanganara colorada). [tesis pregrado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos facultad de Farmacia y Bioquímica Lima-Perú 2009.
25. Gilca M, Stoian I, Atanasiu V, Virgolici B. The oxidative hypothesis of senescence. *J Postgrad – Med.* [revista en internet] 2007. [acceso marzo 2013]; 53:207-13. Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet_f=10&pident_articulo=13063508&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v23n06a13063508pdf001.pdf

26. Criado Dabrowska C. Moya Mir M. vitaminas y antioxidantes. Servicio de Medicina Interna y Urgencias. Ed. Sanidad y Ediciones, S.L. Barcelona. actuaciones el médico. 2009
27. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev. Cubana Med. Milit. [revista en internet]. 2002. [acceso abril 2013]; 30(1):15-20. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf
28. Avendaño L. Introducción a la Química Farmacéutica. 2da Edición. Ed. Mc Graw- Hill/ Interamericana de España. 2001
29. Velásquez M; Prieto B; Contreras R. El envejecimiento y los radicales libres. Revista Ciencias de la UNAM. [revista en internet]. Julio – setiembre 2004. [acceso abril 2014]; 75(1): 36- 43. Disponible en: <http://www.alumno.unam.mx/algo-leer/Envejecimiento.pdf>
30. Rodríguez J, Menéndez J, Trujillo Y. Radicales libres en la biomédica y estrés oxidativo. Rev. Med. Milit. “DR. Luís Díaz Soto” Cuba [revista en internet]. 2001. [acceso febrero 2013]; 30(1):36-44. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol30_1_01/mil07100.pdf
31. Blanco M. Elaboración de productos con plantas de uso medicinal Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro U. L.; 2011
32. Gennaro A. Remington Farmacia. 20ª Edición. Tomo II. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2003
33. Aguilar FE. Estudio de los flavonoides aislados de las hojas de *Smilax sonchifolius* (yacón) y determinación de su actividad antioxidante y antirradicalaria. [Tesis de Maestría]. Lima: UNMSM; 2007.
34. Laboratorios Farmacéuticos Markos. Procedimiento de Operación Estándar; Fabricación de Productos semisólidos no estériles. Lima. 2004.
35. DIGEMID. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos. Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas- Ministerio de Salud. RM N°055-99.SA/DM. Lima; 1999.
36. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J Sci Technol. [revista en internet] 2004. [acceso marzo 2014]; 26(2):211-219. Disponible en: <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb/journal/26-2/07-DPPH.pdf>
37. Castañeda B, Ramos E, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Horizonte Médico [revista en internet]. 2008 [acceso Abril de 2014]; Vol. 8 N°1. Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008-I/Art4-Vol8-N1.pdf>.
38. Heberle G, Araujo M, Magri S. Cosmetic formulations containing blueberry extracts (*Vaccinium mytilus*). Journal of science and technology. [revista en internet] 2012. [acceso marzo 2014]; 2(1).Disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/car/vol14_1_00/car08100.pdf
39. Echavarría BZ, Franco AS, Martínez AM. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe colombiano. Vitae. [revista en internet] 2009. [acceso marzo 2014]; 16(1):126-131. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a15.pdf>
40. Concepción A, Fernández P, Fernández R, Mata M, Del Vallín Cruz T. Evaluación de extractos de algas marinas, con actividad antioxidante y reorganizadora de la fibra colágena. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. [revista en internet] 2001. [acceso marzo 2014]; 20(1):6-11. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S086403002001000100001&script=sci_arttext&lng=pt
41. Vicuña Z. Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling “wayra muña”. [Tesis].

Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas; 2012.

42. Signorelli I; Isla M. Elaboración de una crema para uso tópico a base de *Urtica dioica* L. Revista de la Facultad de Farmacia. [revista en internet] 2005. [acceso marzo 2014]; (47):2. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/23873>
43. Viturro C, Molina A, Schmeda-Hirschmann G. Free radical scavengers from *Mutisia friesiana* (Asteraceae) and *Sanicula graveolens* (Apiaceae). Phytotherapy Research. [revista en internet] 1999. [acceso julio 2014]; 1999; 13(5):422-424. Disponible en: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1099-5773\(199908/09\)13:5%3C422:AID-PTR462%3E3.0.CO;2-M/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1099-5773(199908/09)13:5%3C422:AID-PTR462%3E3.0.CO;2-M/abstract)

ANEXOS

Anexo 1

Certificado de clasificación botánica de *Mutisia acuminata*. R&P "chinchilcoma"



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 Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. **Amelia Diana, OMONTE QUISPE**, 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	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Mutisia
ESPECIE	:	<i>Mutisia acuminata</i> R.&P.
N.V.	:	"chinchilcoma"

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

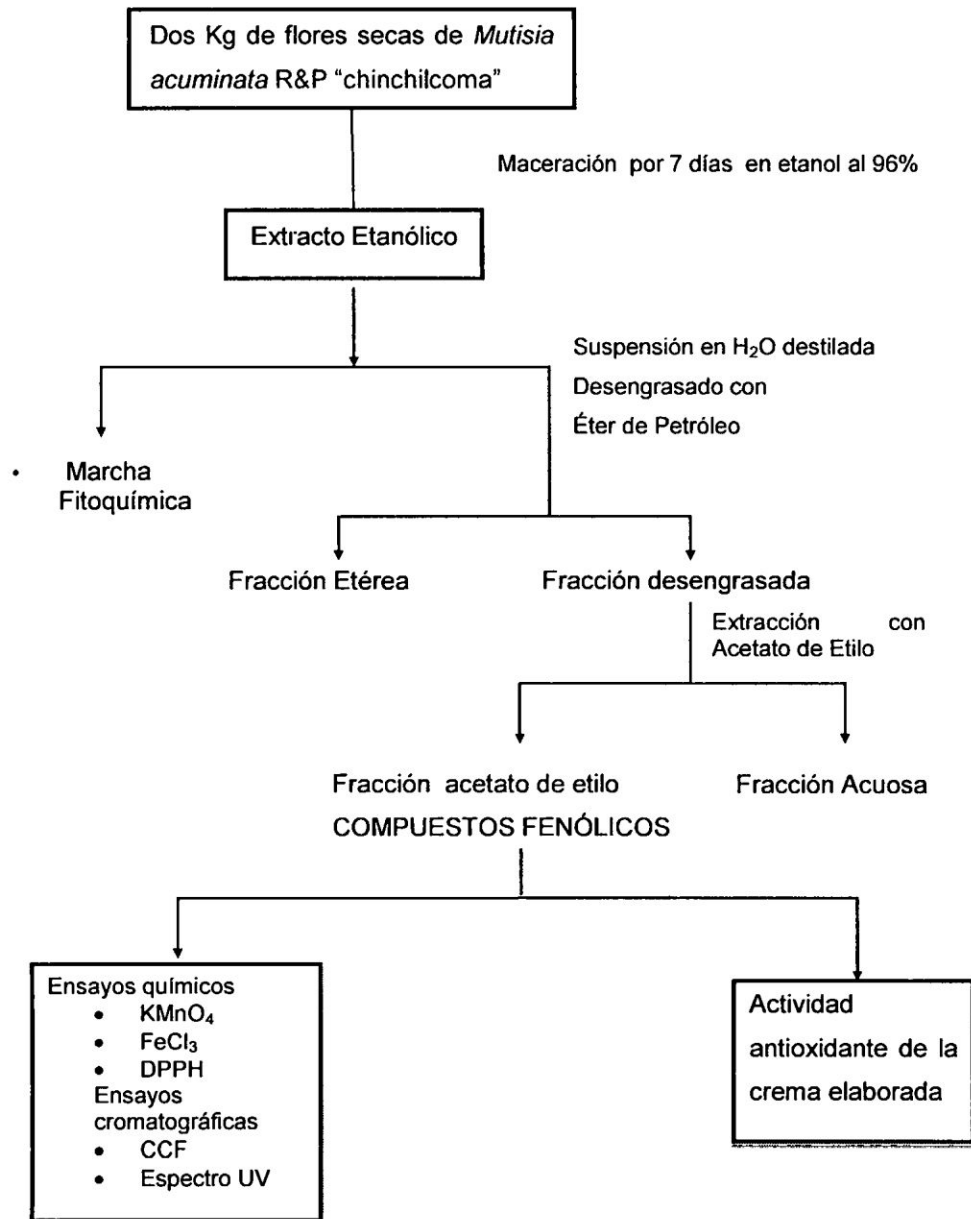
Ayacucho, 07 de Agosto del 2013

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

Dpto. 2.
Cristina Meléndez
JEFE

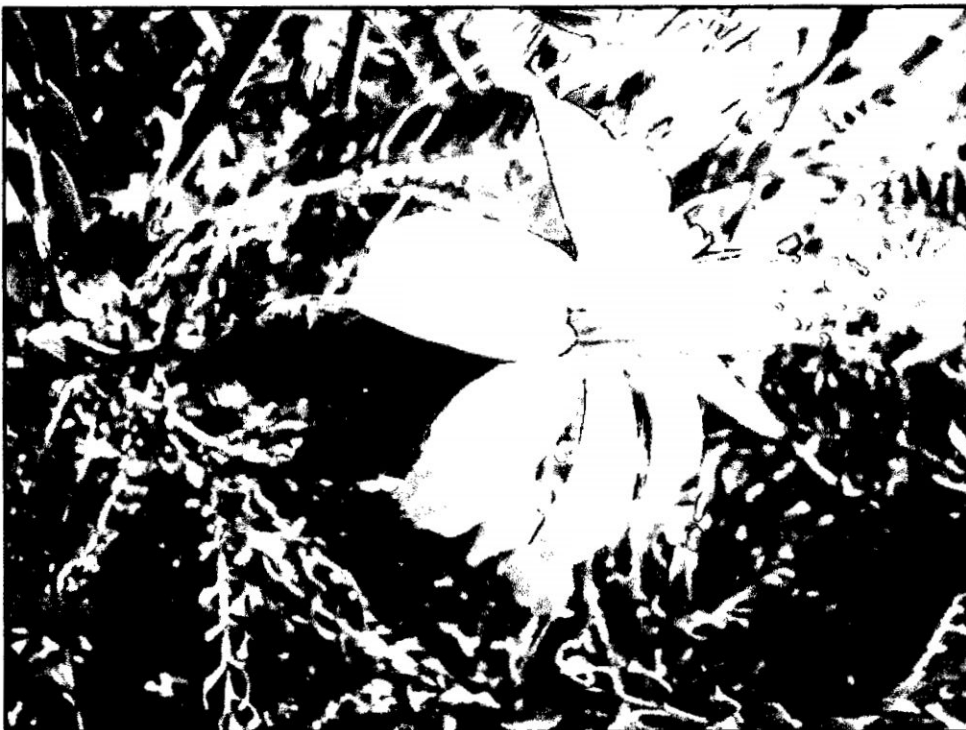
ANEXO 2

Flujograma del aislamiento de flavonoides de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma"



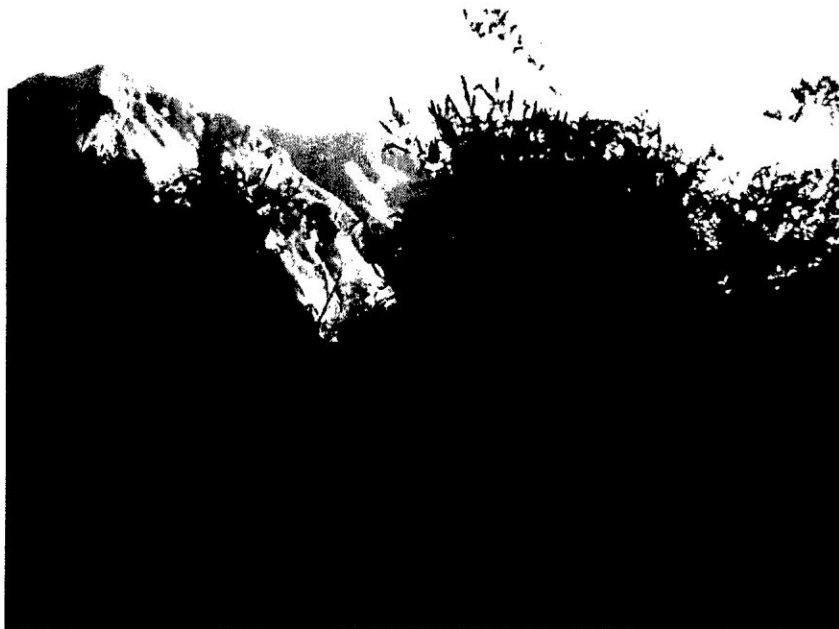
Anexo 3

Flor de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma"



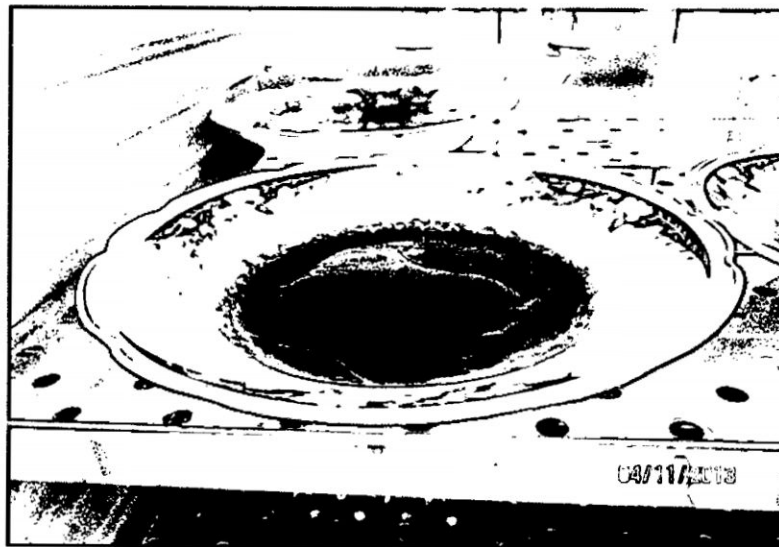
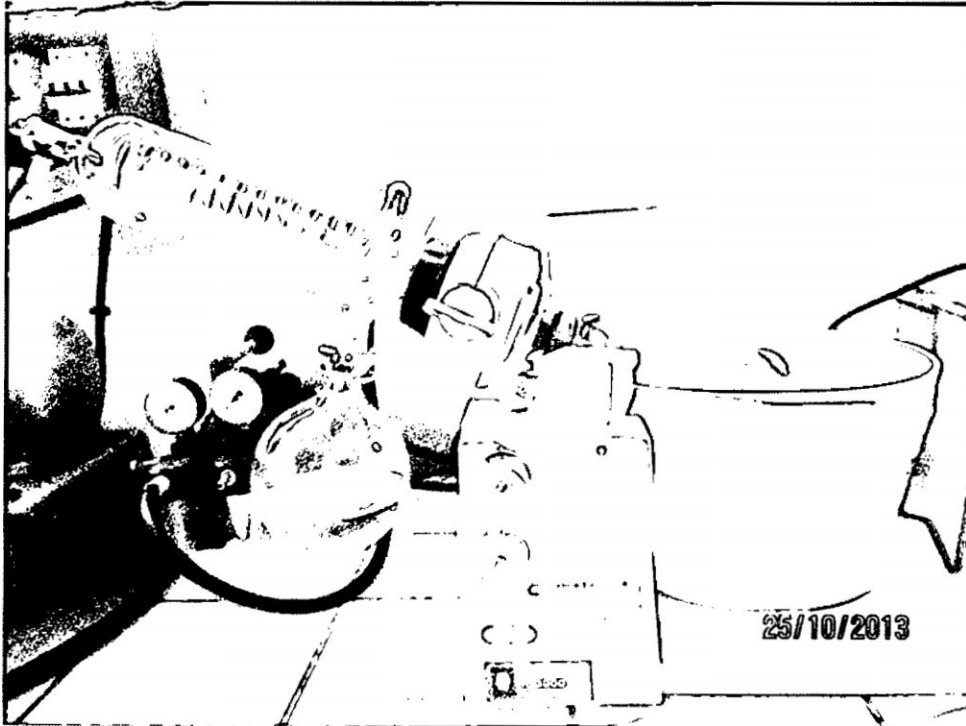
Anexo 4

Recoleccion y secado de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma"



Anexo 5

Concentración de la fracción etanólica de las flores de *Mutisia acuminata* R&P
"chinchilcoma"



Anexo 6

Metabolitos secundarios del extracto etanólico de las flores de *Mutisia acuminata*. R&P "chinchilcoma".

Metabolito	Ensayo	Resultado	Observación
Azúcares reductores	Benedict	++	Precipitado rojo
Catequinas	Catequina	+++	Mancha verde carmelita a luz UV
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	+++	Precipitado rojo
Flavonoides	Shinoda	+++	Fase amílica de color rojo intenso
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde intensa
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	++	Coloración verde oscura

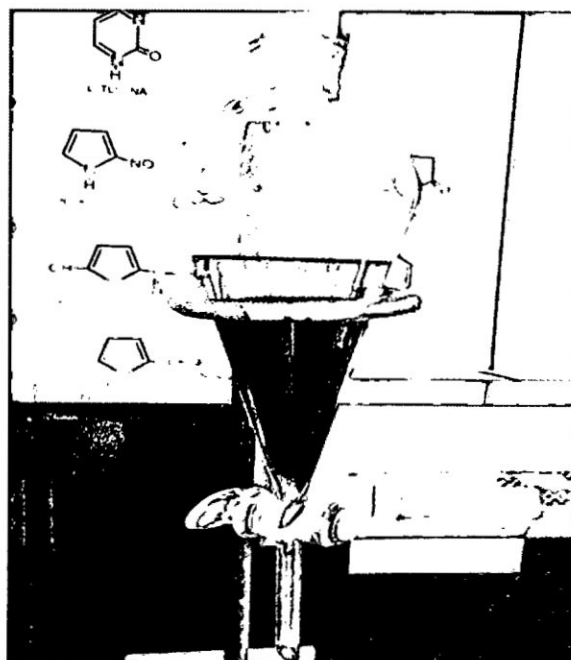
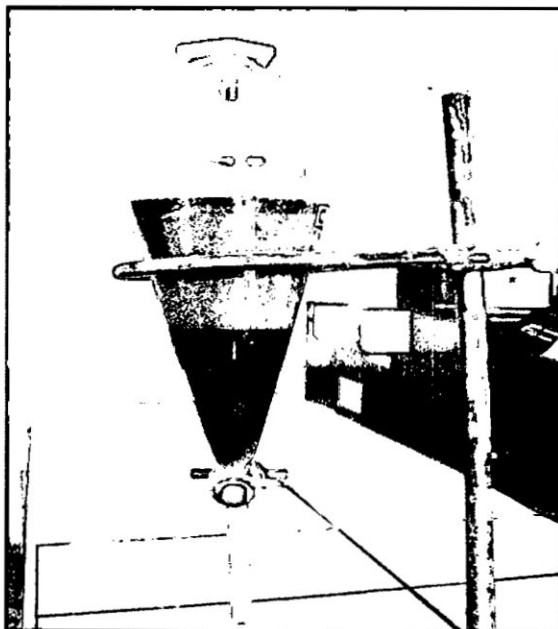
(+): Escaso

(++): Regular

(+++): Abundante

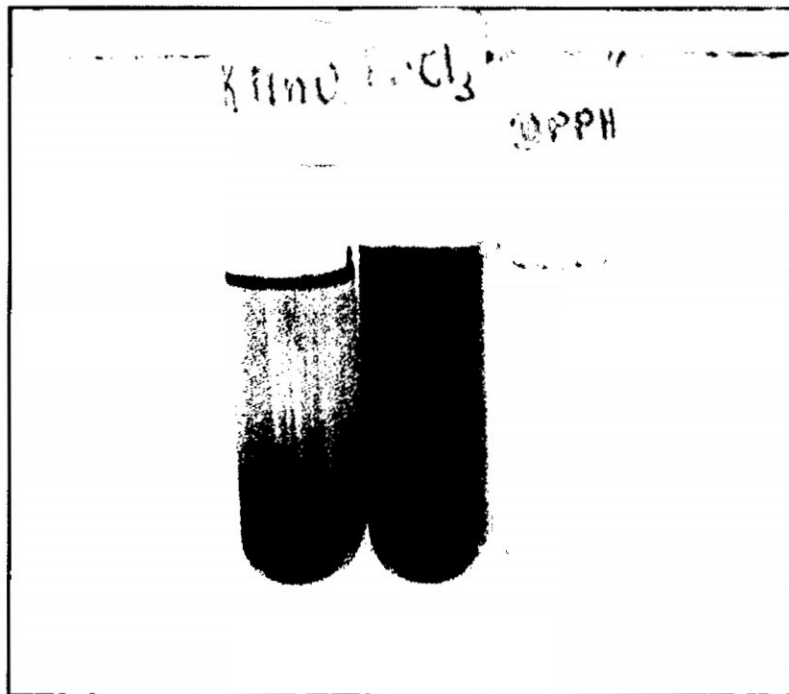
Anexo 7

Desengrasado de la fraccion etanolica total con eter de petroleo y extraccion liquido – liquido con acetato de etilo de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma"



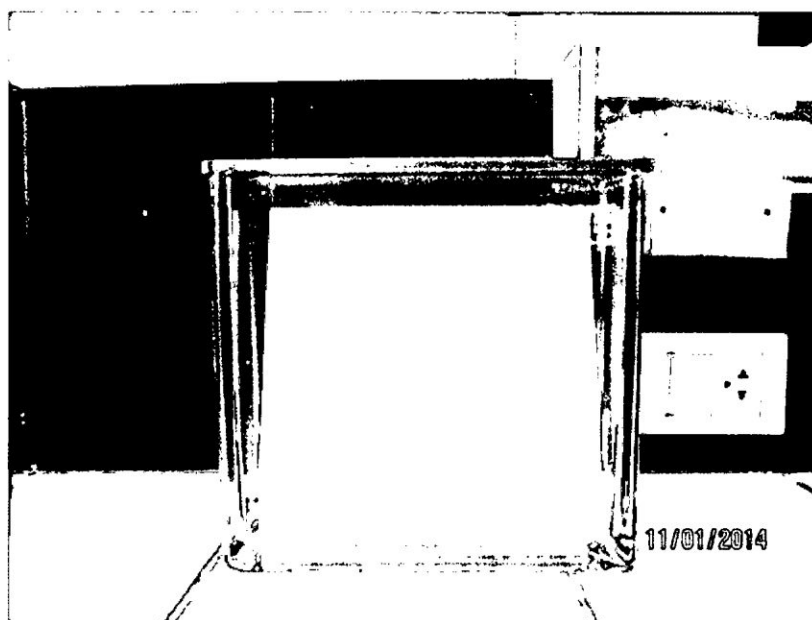
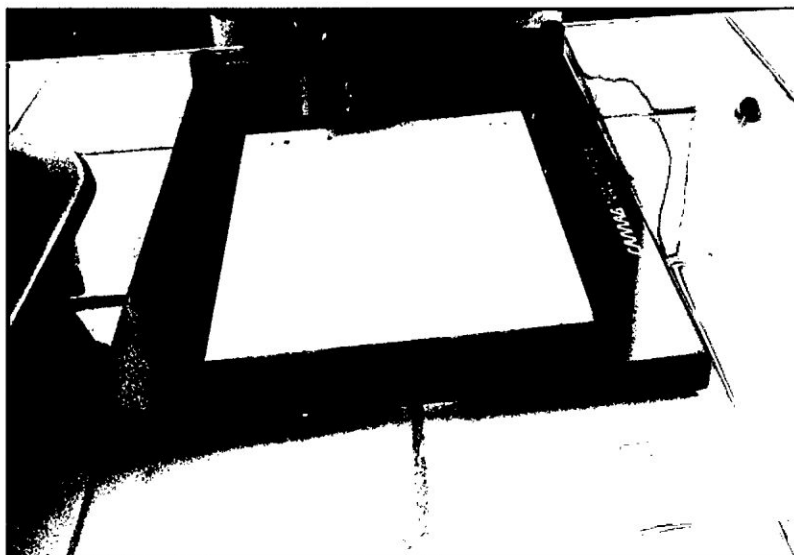
Anexo 8

Pruebas químicas de los compuestos fenólicos aislados



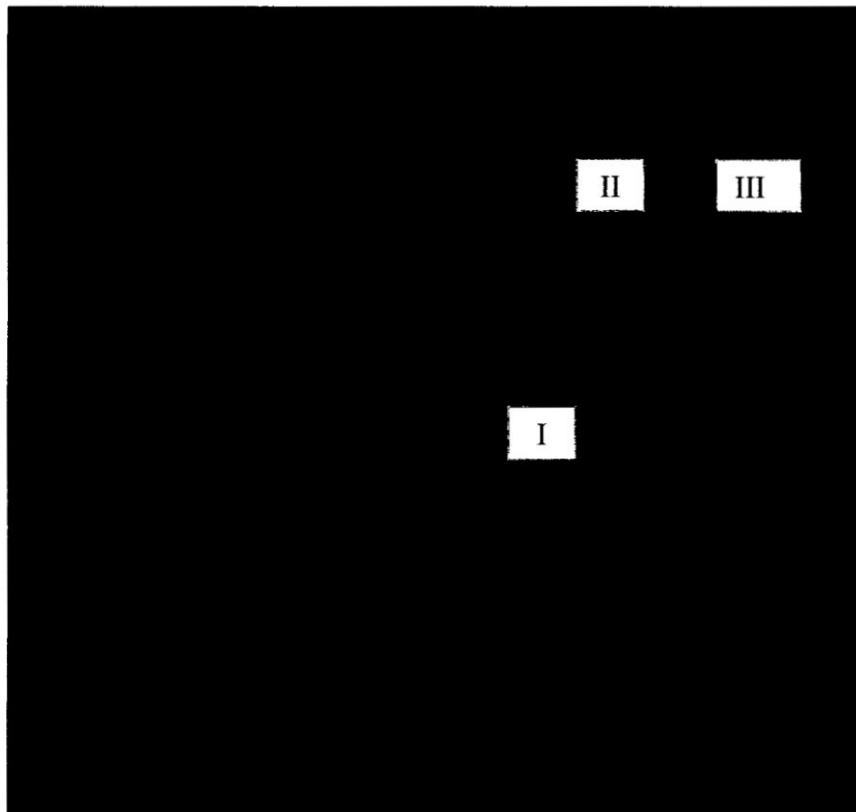
Anexo 9

Sembrado en la placa cromatográfica de capa fina 20 x 20 conteniendo silicagel y desarrollo de la cromatografía de la fracción de acetato de etilo aislado de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma"



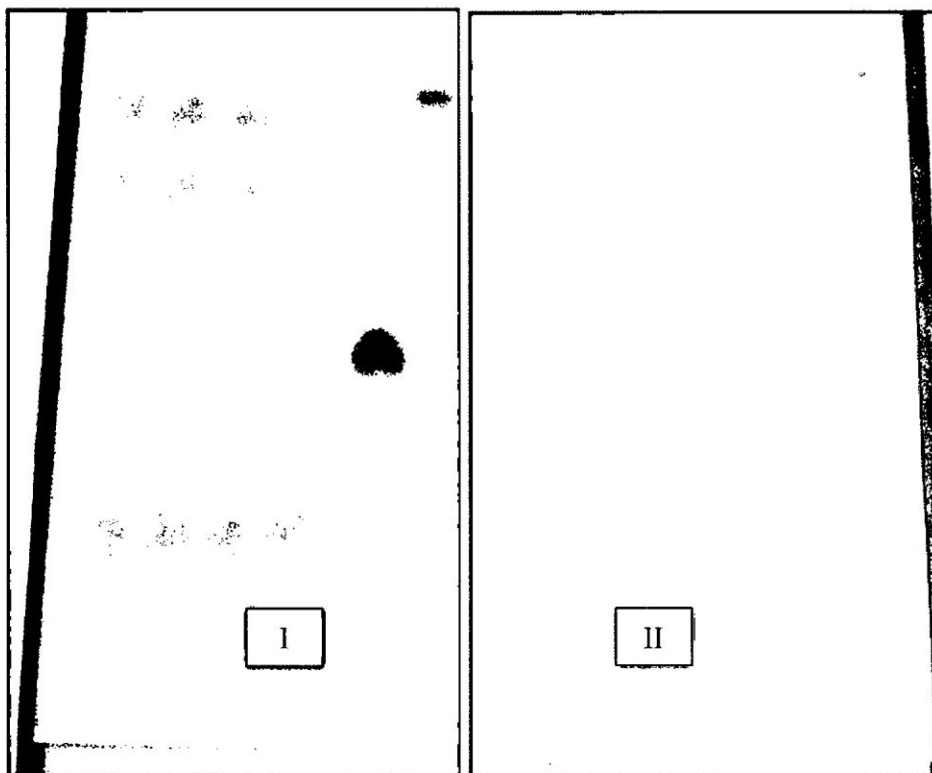
Anexo 10

Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos aislados (I), quercetina (II) ácido caféico (III) revelado con luz ultravioleta



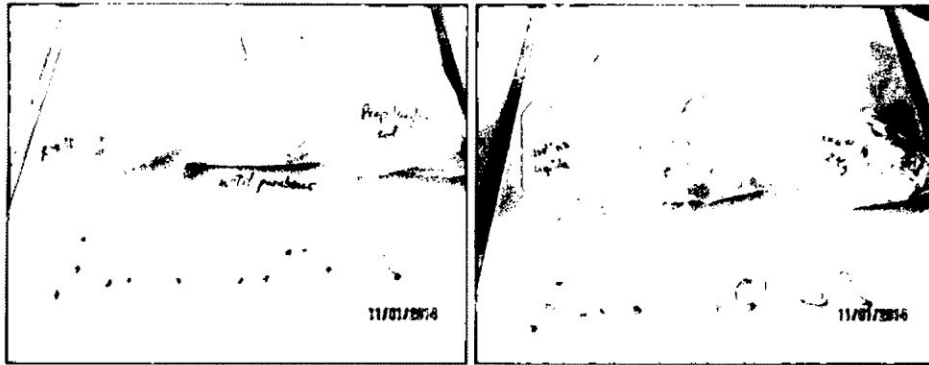
Anexo 11

Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos, revelados con cloruro férrico al 5% (I) y DPPH (II)



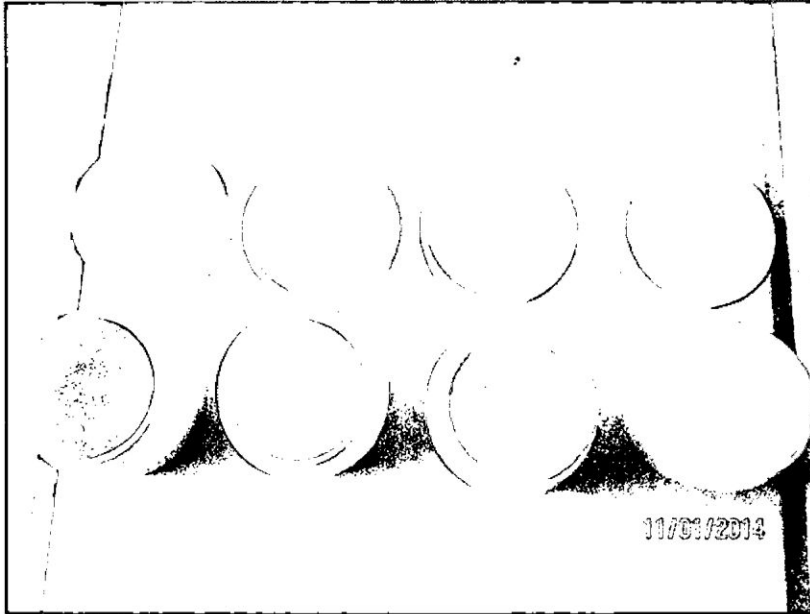
Anexo 12

Elaboración de la crema a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma"



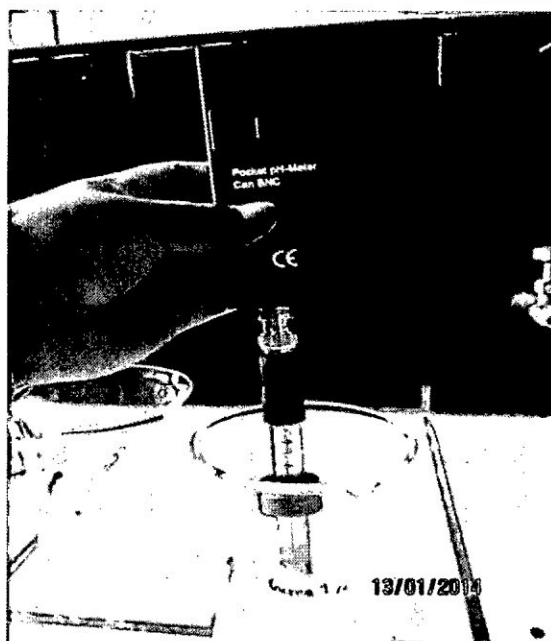
Anexo 13

Formulación de las cremas a diferentes concentraciones



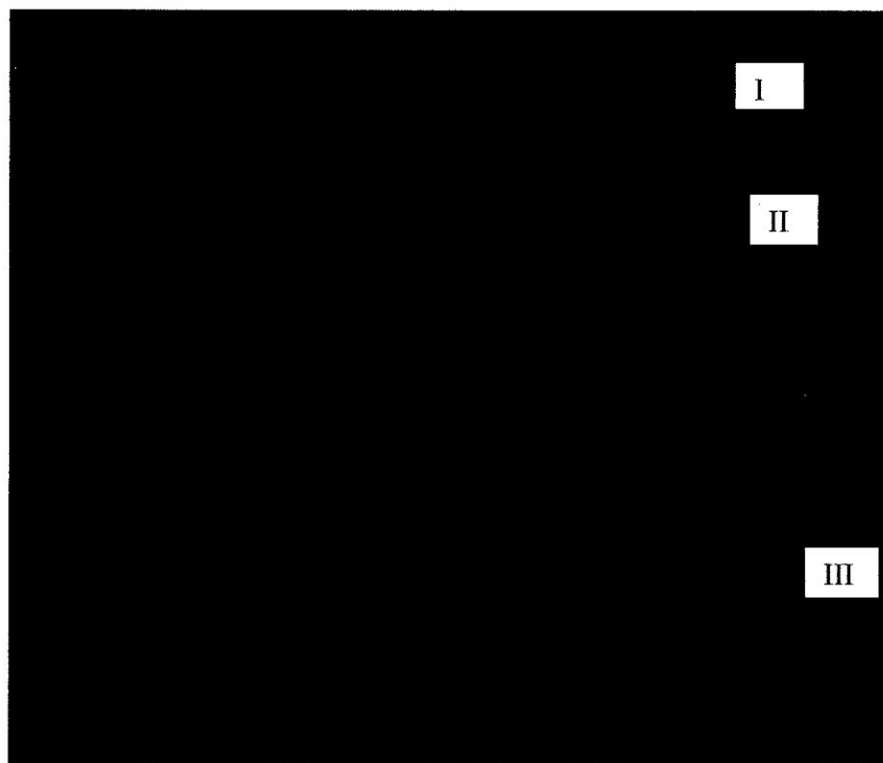
Anexo 14

Determinación de la extensibilidad y el pH de las cremas



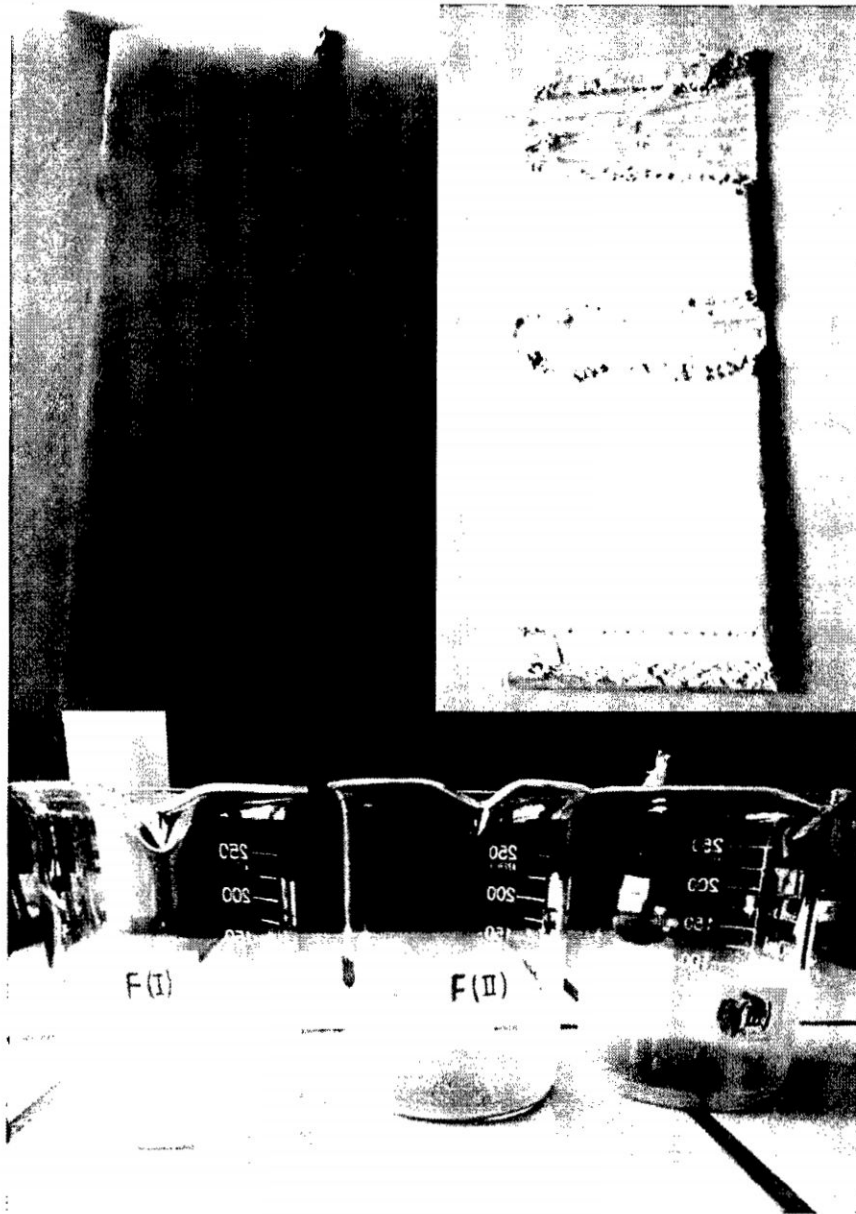
Anexo 15

Cromatografía de las fracciones que muestra las fluorescencias de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".



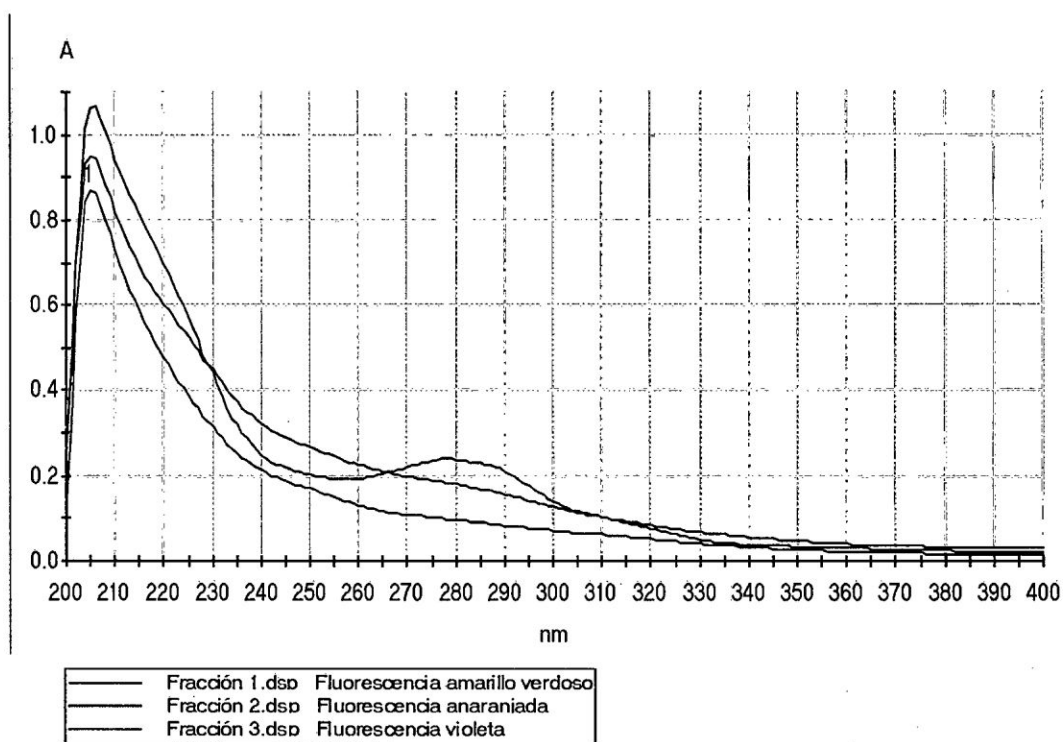
Anexo 16

Cromatografía en capa fina preparativa y recuperación de fracciones



Anexo 17

Curva Espectral de las fracciones F1, F2 y F3 aislados



Anexo 18

Análisis de varianza del porcentaje de la actividad secuestradora del DPPH

ANOVA^{a, b}

			Método único				
			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Actividad secuestradora del DPPH(%)	Covariables Concentración (ug/mL)		2909.282	1	2909.282	60.254	.000
	Efectos principales Tratamientos		9411.611	3	3137.204	64.974	.000
	Modelo		12320.893	4	3080.223	63.794	.000
	Residual		1496.804	31	48.284		
	Total		13817.697	35	394.791		

a. Actividad secuestradora del DPPH(%) por Tratamientos con Concentración (ug/mL)

b. Todos los efectos introducidos simultáneamente

Anexo 19
Porcentaje de actividad secuestradora del radical DPPH de las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chirchicomá".

Repetición n	Fórmula											
	Crema base			Crema al 0,5%			Crema al 1,0%			Crema al 2,0%		
	100µg/ ml	50µg/ml	10µg/ml	100µg/ ml	50µg/ml	10µg/ml	100µg/ ml	50µg/ml	10µg/ml	100µg/ ml	50µg/ml	10 µg/ml
1	51,12	49,90	52,54	95,30	79,11	54,16	98,58	85,60	69,58	99,79	99,59	87,83
2	52,13	53,14	50,10	96,75	78,30	54,56	98,78	86,00	66,73	99,59	97,36	83,57
3	51,32	50,91	45,64	96,15	79,51	55,38	98,58	88,23	70,59	99,79	97,77	82,96
Promedio	51,52	51,32	49,43	96,07	78,97	54,70	98,65	86,61	68,97	99,72	98,24	84,79

Anexo 20

Tabla 12. Matriz de consistencia

Metodología

Variables

Hipótesis

Marco teórico

Objetivos

Problema

Titulo

Básico-Experimental

Tipo de Estudio: Básico-Experimental.

Población: Flores de Mutisia acuminata "chinchilcoma"

Muestra: 2,0 Kg de Flores de Mutisia acuminata R&P.

Recolección de los datos: "chinchilcoma"

Recolección, identificación y selección de la muestra.

Preparación del extracto etanólico.

Tamizaje fitoquímico de los flavonoides.

Extracción e identificación de los flavonoides

Formulación de la crema

Determinación de la actividad antioxidante

Análisis estadístico de los resultados

Los resultados serán representados en forma de gráfico de barras en función de las medias.

Las diferencias entre las medias serán contrastadas mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) a una nivel de confianza del 95% (p<0,05).

Titulo	Problema	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Tipo de Estudio: Básico-Experimental
Actividad antioxidante a crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma", Ayacucho, 2013	¿Tendrá actividad antioxidante a diferentes concentraciones a crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma"?	Objetivo general: •Determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma" Objetivos Específicos: •Aislar los compuestos fenólicos presentes en las flores de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma" •Formular y elaborar la crema a una concentración de 0,5%, 1% y 2% a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma". •Evaluar los parámetros fisico quimico de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma".	Antecedentes Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de Calceolaria Kraenzl "wawillay". Evaluación de la actividad antiinflamatoria tópica de hidrogeles elaborados a partir de extractos de Mutisia acuminata Ruiz & Pav ("chinchilcoma"). Clasificación taxonomica botánica Descripción Uso tradicionales Son un grupo de moléculas reconocida para su capacidad neutralizar los radicales libres, estas como una han surgido para combatir alternativa para combatir las deficiencias asociadas al estrés oxidativo (Castañeda, 2008). Crema Son farmacéuticas constituidas por dos fases, una lipófila y otra acuosa.	La crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma" a diferentes concentraciones tiene actividad antioxidante.	Variable independiente Compuestos fenólicos aislados de las flores de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma". Indicador Las concentraciones del extracto etanólico. Variable dependiente Actividad antioxidante a la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma". Indicador Porcentaje de la actividad secuestradora del DPPH.	Tipo de Estudio: Básico-Experimental. Población: Flores de Mutisia acuminata "chinchilcoma" Muestra: 2,0 Kg de Flores de Mutisia acuminata R&P.

Actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma". Ayacucho – 2013.

Amelia Diana Omonte Quispe¹, Enrique Aguilar Felices¹
¹Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

Los daños dermatológicos por causa de las radiaciones o el envejecimiento son motivo de búsqueda incesante de productos antioxidantes y las plantas son de especial predilección hoy en día. El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma", durante los meses de agosto del 2013 a febrero del 2014. La muestra fue recolectada en el centro poblado de Chuschi, provincia de Cangallo, departamento de Ayacucho, obteniéndose los compuestos fenólicos a partir de un extracto etanólico, con solventes de diferente polaridad, realizándose su identificación mediante ensayos cualitativos, cromatográficos y espectrales, las cuales indican la presencia de isoflavonas. La actividad antioxidante se determinó por el método espectrofotométrico usando el DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), se elaboró las cremas a concentraciones de 0,5; 1 y 2% a base de compuestos fenólicos. Las cremas al 0,5 y 1,0 % fueron de color crema claro y al 2%, mostaza claro, todos de aspecto homogéneo, pH neutro y el tipo de emulsión, O/W. La extensibilidad bajo 500 g de peso fue ejercido: al 1%, con mayor extensibilidad (91,1 cm²), seguida de la crema al 2% (90,3 cm²) y finalmente la de 0,5% (86,1 cm²) ligeramente mayor que la crema base (84,3 cm²), la crema al 2.0% presenta mayor porcentaje de inhibición de radicales libres (99,70%), respecto a las cremas al 1,0% y 0,5% que presentaron porcentajes de 98,6% y 96,1% respectivamente. Sin embargo, todos los porcentajes de inhibición de las cremas al 0,5%, 1,0% y 2,0% son estadísticamente similares ($p > 0,05$). Se concluye que la crema posee características organolépticas óptimas para una crema, y que a diferentes concentraciones las cremas tuvieron actividad antioxidante.

Palabras clave: *Mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma", compuestos fenólicos, antioxidante y radicales libres.

SUMMARY

The skin damage caused by radiation or aging are of relentless pursuit of antioxidant products and plants are of special predilection today. This research was conducted in order to determine the antioxidant activity of the cream produced from phenolic compounds isolated from flowers *Mutisia acuminata* R & P. "Chinchilcoma" during the months of August 2013 to February 2014. The sample was collected in the town center Chuschi province of Cangallo, department of Ayacucho, obtaining the phenolic compounds from an ethanol extract with solvents of different polarity, performing qualitative identification by chromatographic and spectral tests, which indicate the presence of isoflavones. The antioxidant activity was determined by the spectrophotometric method using DPPH (1, 1-difenil-2 picrylhydrazyl), the creams was prepared at concentrations of 0.5; 1 and 2% based phenolics compounds. Creams 0.5 and 1.0% were light cream and 2%, clear mustard, all of homogeneous aspect, neutral pH and the emulsion type, O / W. The extensibility under 500 g weight was exercised: 1%, with greater extensibility (91.1 cm²), followed by 2% cream (90.3 cm²) and finally 0.5% (86.1 cm²) slightly larger than the base cream (84.3 cm²), the cream 2.0% presents higher percentage inhibition of free radicals (99.70%) compared to creams to 1.0% and 0.5% who presented percentages of 98.6% and 96.1% respectively. However, all percentages inhibition creams 0.5%, 1.0% and 2.0% are statistically similar ($p > 0.05$). It concludes that the cream has optimum organoleptic characteristics for a cream at different concentrations the creams had antioxidant activity.

Key words: *Mutisia acuminata* R & P. "Chinchilcoma" phenolic compounds, antioxidant and free radical.

INTRODUCCIÓN

El tema de los antioxidantes ha venido adquiriendo importancia singular en los últimos tiempos. Al existir una disminución de los niveles de antioxidantes o una inhibición de las enzimas antioxidantes se desencadena un estrés oxidativo, produciendo un daño celular por la oxidación a macromoléculas como proteínas, lípidos y ácido desoxirribonucleico. Estudios previos correlacionan el estrés oxidativo con la patogénesis de numerosas enfermedades y han demostrado que los antioxidantes desempeñan una función fundamental en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles por lo que es importante el consumo de sustancias antioxidantes no enzimáticas o la innovación de nuevos productos químicos enzimáticos que puedan lograr un efecto positivo en la salud del paciente.^{1,2} Una fuente importante de estas sustancias son las que derivan de productos naturales.³ En este sentido, los flavonoides y ácidos fenólicos se han constituido como importantes sustancias antioxidantes por ser fuertes atrapadores de radicales libres.⁴ Solamente resta transformarlos para su administración en los sistemas biológicos.

De otro lado, la preparación y formulación de los medicamentos se consideró durante muchos años como un arte, y su estudio como disciplina estaba constituido por una gran cantidad de conocimientos empíricos y descriptivos que se han transformado. En la actualidad, es un conjunto de nociones de alto rigor científico y acelerado desarrollo.⁵

Este escenario nos motivó a determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma". En este cometido, previa revisión de la bibliografía, se siguió técnicas estandarizadas usadas en estudios similares y procedimientos propios de los laboratorios de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.

En este informe, adicionalmente a la determinación de la actividad antioxidante, se describen los procedimientos y resultados de aislar compuestos fenólicos de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma", de formular y elaborar cremas a concentraciones de 0,5, 1 y 2% y de evaluar sus parámetros físico químicos, dando valor agregado así a una especie endémica en nuestra región.⁶

Por todas las consideraciones y con el propósito de generar conocimiento acerca de las propiedades de esta especie, es necesario conocer la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma", para lo cual se plantearon con los siguientes objetivos:

Objetivo General:

- Determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R & P "chinchilcoma".

Objetivos Específicos:

- Aislar los compuestos fenólicos presentes en las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".
- Formular y elaborar las cremas a una concentración de 0.5%, 1% y 2% a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".
- Evaluar los parámetros físico químicos de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma".
- Evaluar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" sobre el radical libre del DPPH.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de Investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Farmacognosia del Área académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de agosto del 2013 a febrero del 2014.

Definición de la población y muestra

Población Flores secas de *Mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma" que crecen en el distrito de Chuschi, provincia de Cangallo, Departamento de Ayacucho.

Muestra Dos Kilogramos de Flores de *Mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma"

Tipo de Estudio Básico – Experimental

Unidad de análisis La crema a diferentes concentraciones de 0,5%, 1,0% y 2,0%

Diseño metodológico para la recolección de datos

Recolección de la muestra

Se recolectó las flores frescas e intactas en los alrededores del distrito de Chuschi, se colectó las flores no dañadas en horas de la mañana, se lavó con abundante agua y se secó a sombra, en una habitación ventilada sobre papel periódico, aproximadamente por una semana, para su posterior reducción de tamaño e partículas. Una parte de la planta con hojas y flores fue llevada al *Herbarium Huamanquensis* de la UNSCH para la clasificación taxonómica.²

Preparación del extracto etanólico

Se utilizó dos kg de flores secas, luego se realizó la molienda en un mortero de porcelana, el material molido se llevó a maceración en un frasco de color ámbar por un período de una semana en nueve litros de alcohol de 96 cuyo volumen cubrió la muestra. Durante el proceso se agito mecánicamente el frasco para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se filtró del macerado a través del filtro al vacío utilizando papel Whatman N 40, luego se llevó a concentrar a sequedad en un rotavapor rotatorio BUCHI 3000, y luego en una estufa a 40C, hasta obtener un extracto seco

Extracción de los compuestos fenólicos

El extracto etanólico seco se reconstituyó con agua destilada y se trató con éter de petróleo con la finalidad de eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos que puedan interferir con la extracción de compuestos fenólicos.

La extracción líquido-líquido con acetato de etilo se hizo utilizando un embudo de separación, para recuperar finalmente la fracción de acetato de etilo y evaporarla a sequedad (fracción flavónica).⁷

Reacción de cloruro férrico

Se añadió unas gotas de cloruro férrico 1%, sobre la fracción de acetato de etilo y se observó una coloración verde que demostró la presencia de compuestos fenólicos.⁸

Cromatografía en capa fina (CCF)

Sistema cromatográfico:

- Fase estacionaria: Placa cromatográfica 20 x 20 conteniendo Silicagel G 254 (Merck)
- Fase móvil: Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)
- Volumen de inyección: 20 µl
- Revelador: Luz ultravioleta, cloruro férrico y DPPH.

Aislamiento de los compuestos fenólicos

- Fase estacionaria: Placa cromatográfica 20 x 5 conteniendo Silicagel G 254 (Merck)
- Fase móvil: Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)

La siembra de la fracción de acetato de etilo se realizó en bandas con el propósito de aislar los compuestos fenólicos, los cuales se evidenciaron en la luz ultravioleta. Estas bandas fueron recuperados, disueltos en metanol y filtrados, obteniéndose tres bandas.

Pruebas espectrales

Las bandas obtenidas fueron leídas en el espectrofotómetro ultravioleta GENESYS 6, en el rango de 200 a 500 nm,

Formulación de la crema a ensayar

Tabla 1. Fórmula de la crema elaborada a diferentes concentraciones a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" Ayacucho – 2013

Principio activo y excipientes	Concentración			
	0,5%	1,0%	2,0%	Crema Base
Extracto de <i>Mutisia acuminata</i> R&P. "chinchilcoma", 0,5 (g).	0.15			
Extracto de <i>Mutisia acuminata</i> R&P. "chinchilcoma" 1 (g).		0.30		
Extracto de <i>Mutisia acuminata</i> R&P. "chinchilcoma" 2 (g).			0.60	
Metilparabeno (g).	0.003 8	0.0038	0.0038	0.0038
Propilparabeno (g).	0.002 3	0.0023	0.0023	0.0023
Lanette N (g).	3.0	3.0	3.0	3.0
Alcohol Cetílico (g).	0.3	0.3	0.3	0.3
Propilenglicol (g).	0.6	0.6	0.6	0.6
Vaselina Liquida (g).	1.5	1.5	1.5	1.5
Agua Purificada c.s.p.	30.00	30.00	30.00	30.00

Elaboración de la crema en ensayo

Formación de la fase oleosa

Se colocó en un recipiente de acero inoxidable provista de baño maría: vaselina liquida, alcohol cetílico y lanette N, se fundió a 70°C bajo agitación moderada.⁹

Formación de la fase acuosa

En un recipiente adecuado de acero inoxidable provista de baño maría se colocó agua purificada y se calentó a 70-75°C, luego se agregó propilenglicol, metilparabeno y propilparabeno, se agito hasta dilución completa.

En un recipiente adecuado de vidrio se cargó agua purificada, y se agregó bajo agitación moderada el compuesto fenólico aislado de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" hasta disolución completa.

Formación de la emulsión final

Una vez que los ingredientes estén 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.

Se apagó las fuentes de calor y se dejó que la temperatura descienda normalmente mientras se continuó agitando constantemente.

La emulsión formada se caracteriza por ser blanca y fluida, se verifico el pH (entre 5,0 a 7,5).

Se verifico el peso final, se dejó en reposo hasta su enfriamiento en su ambiente aséptico. Una vez verificado los controles y ensayos, se envaso en un ambiente aséptico en envases previamente sanitizados.^{9, 10}

Determinación de las características organolépticas. Se determinaron las características organolépticas de las cremas siguiendo los procedimientos descritos.³⁴ en la evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcoholico de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma"

Determinación de pH. Para determinar el pH se siguió el método de Fiedler, se tomó 5 a 10 g de crema en un vaso precipitado y luego se llevó a baño maría, se fundió la muestra y se le agregó 30 ml de agua bidestilada a pH 7, se

calentó a 70 °C, se mezcló bien hasta la formación de dos fases, se filtró la fase acuosa y se determinó el pH del filtrado.⁹

Determinación del tipo 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 5 mL de vaselina líquida o alcohol, se mezcló y se observó.

Determinación del índice de extensibilidad

Para realizar este ensayo se utilizó dos placas de cristal (10 X 10 cm) en las cuales se colocaron una cantidad de 2 g y se trabajó a una temperatura de ± 0.5 °C.

Se colocó la placa inferior de cristal sobre una hoja de papel milimetrado, se recuadro la placa y se trazaron las diagonales, se colocó la muestra del preparado sobre el punto de intersección.

Se pesó la placa superior y se coloca sobre la inferior, pasado un determinado tiempo por el efecto de la presión la muestra se extiende de forma circular.

Se anotó los valores de los dos diámetros y se calculó el diámetro medio y a partir de este, se calculó la superficie del círculo formado.

Se representó la extensibilidad en mm² (área = n(d/2)²) frente a los pesos empleados.

Método de la capacidad secuestradora del radical DPPH

Fundamento: El radical libre y estable DPPH, es una sustancia que mide la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidativa. Se caracteriza como un radical libre estable en virtud de la deslocalización del electrón libre en toda la molécula, de manera que las moléculas no dimerisen, como en el caso de la mayoría de otros radicales libres. La deslocalización también da lugar a un color violeta oscuro, que se caracteriza por una banda de absorción en solución de etanol a aproximadamente 520 nm. Cuando una solución de DPPH se mezcla con la de una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno, entonces esto da lugar a la forma reducida con la pérdida de este color violeta.¹¹

Preparación del DPPH

Se pesó 5 mg de DPPH en una fiola de 250 mL la cual se aforo con metanol, obteniendo una concentración de 50 ug/mL.

Preparación de la Muestra

De las cremas formuladas al 0.5, 1, 2 %, se pesó un gramo de cada una de ellas en un vaso precipitado y se agregó 25 mL de metanol, se filtró y se preparó diluciones para obtener concentraciones de 100, 50, 10 ug/mL. Una vez preparadas las diluciones se tomaron de cada una de ellas 3 mL y se le adicionó 1 mL de solución de DPPH las cuales se agitaron vigorosamente y se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente por 5 min, transcurrido el tiempo se procedió a leer la Absorbancia a 517 nm.

Preparación del blanco

Se pesó un gramo de crema base, en un vaso precipitado se le agregó 25 mL de metanol y se filtró, luego se realizó diluciones para obtener concentraciones de 100, 50, 25 ug/mL. Una vez preparada las diluciones se tomaron de cada una de ellas 3 mL y se le adicionó 1 mL de solución de DPPH las cuales se agitaron y se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente por 5 min, transcurrido el tiempo se procedió a leer la Absorbancia a 517 nm.

Los ensayos se realizaron por triplicado para cada formulación de la crema y se empleó un total de 48 tubos de ensayo.¹²

La capacidad de las cremas para reducir los radicales libres se calcularon con la siguiente ecuación:

$$AA\% = \frac{Ac - (Am - Ab)}{Ac} \times 100$$

Dónde:

AA%: porcentaje de actividad antioxidante.

Ac: Absorbancia del control.

Am: Absorbancia de la muestra.

Ab: Absorbancia del blanco

Análisis de datos

Los resultados de la actividad antioxidante se representaron en forma de gráficos en función de las medias. Las diferencias entre las medias fueron contrastadas mediante el Análisis de Varianza Factorial (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% (p<0,05).

RESULTADOS

Tabla 2. Características de las reacciones químicas de la fracción de acetato de etilo que contiene los compuestos fenólicos aislados de las

Flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma". Ayacucho – 2013

Frac ción	Prue ba de FeCl ₃ 5%	Prue ba de KMn O ₄	DPP H	Características		
				FeCl ₃	KMn O ₄	DPP H
Acetat o de etilo	+++	+++	+++	verde oscuro	decolo ra, precipi ta	Decol ora

Leyenda:

(+++) : Abundante

Tabla 3. Características cromatográficas de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" y de los estándares de referencia. Ayacucho - 2013

Fracción	Revelador		
	Fluorescencia	FeCl ₃	DPPH
Acetato de etilo	Azul – púrpura	Marrón	Amarillo
Ac. Caféico*	Celeste	Marrón	Amarillo
Quercetina*	Amarillo	Marrón	Amarillo

* estándares de referencia

Tabla 4. Características espectrales de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma". Ayacucho – 2013

Fracción	Sub-fracciones	Ultravioleta (nm)
Acetato de etilo	F1 (amarillo - verdoso)	209 nm.
	F2 (anaranjado)	209 nm y 288 nm
	F3 (violeta - púrpura)	209 nm y 297nm
Estándar ácido benzoico	-	230 nm y 270 nm

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" Ayacucho, 2013.

Parámetro	Ensayo	Fórmula	Resultado
Organolépticos	Color	Crema 0,5%	crema - claro
		crema 1,0%	crema - claro
		crema 2,0%	mostaza claro
		crema base	blanco nieve
	Olor	Crema	Inodoro
	Sabor	Crema	Amargo
Ph	Aspecto	Crema	homogéneo
		crema base	7,1
		crema 0,5%	7,9
		crema 1,0%	7,6
		crema 2,0%	7,4

Tabla 6. Tipo de emulsión de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.

Método	Solvente	Resultados
Dilución		Homogéneo
	Agua purificada	Soluble (emulsión O/W)
	Alcohol etílico	Heterogéneo Insoluble

Figura 1. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado a las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.

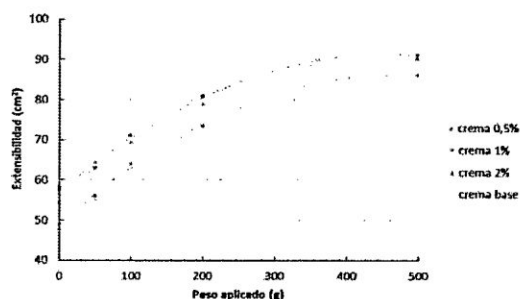


Figura 2. Porcentaje de actividad secuestradora del radical libre DPPH por acción de las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013.

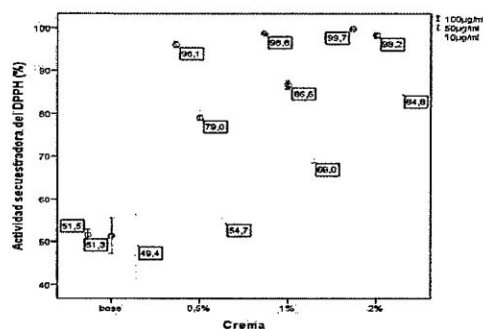


Figura 3. Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos, revelados con cloruro férrico al 5% (I) y DPPH (II)

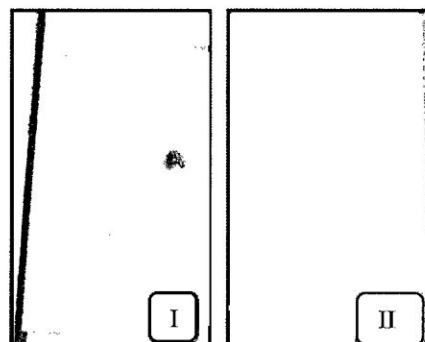
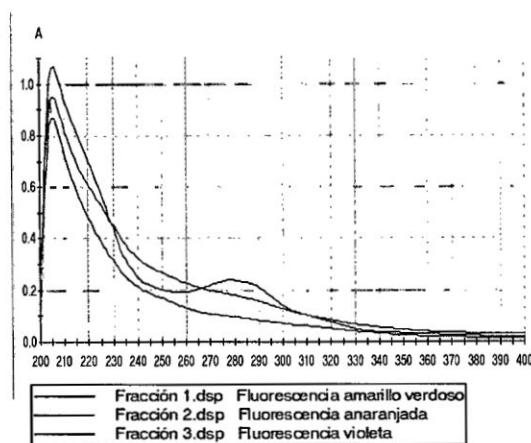


Figura 4. Curva Espectral de las fracciones F1, F2 y F3 aislados



DISCUSIÓN

Las flores de *Mutisia acuminata*. R&P "chinchilcoma" fueron recolectadas del distrito de Chuschi, provincia de Cangallo, región Ayacucho.

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, generalmente constituidos por mezclas de compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica, como los compuestos fenólicos, los que tienen gran capacidad antioxidante. Dentro de esta gran familia pueden encontrarse tres grupos principales: los ácidos fenólicos, los polifenoles y los flavonoides, siendo estos últimos el grupo más común. La finalidad o mecanismo de estos compuestos reside en su capacidad para captar los radicales libres que se pueden generar en las células del cuerpo humano y que son resultado de la combinación de muchos factores ambientales, incluida la contaminación atmosférica.¹³

En las pruebas químicas realizadas de los compuestos fenólicos aislados (tabla 2) fueron diferenciados por las pruebas de cloruro férrico al 5%, con KMnO_4 y DPPH, en la prueba química con FeCl_3 al 5% se produjo un color verde oscuro identificándose presencia de grupos fenólicos en abundante concentración. La prueba química con KMnO_4 produce un cambio de coloración y un precipitado intenso, este cambio de coloración del KMnO_4 se debe a que esta se reduce debido a la acción de los compuestos fenólicos.¹⁴ En la prueba química con DPPH se observa la decoloración del radical libre, esto debido a que el radical libre tiene un electrón desapareado y es de color violeta decolorándose a amarillo cuando reacciona con los compuestos fenólicos que pueden donar un átomo de hidrógeno.^{3,15} Dado que todas las reacciones son positivas podemos afirmar que los compuestos aislados de las flores de *Mutisia acuminata*. R&P "chinchilcoma" tienen propiedades antioxidantes.

En la tabla 3, se observa la presencia de fluorescencia de color azul-purpura a la luz del espectro ultravioleta, de lo cual se deduce que se trata de un compuesto fenólico, cuando se revela la misma placa con cloruro férrico al 1% y DPPH (Figura 3), se observan manchas de color marrón y amarillo a la luz visible. Esta mancha de color purpura a la luz UV indica que se trata de los compuestos fenólicos.¹⁶ Estudios realizados en *Mutisia acuminata* se determinó la presencia de flavonoides como la quercetina, quercetina-3-glucoronido, isorhamnetin-3-glucoronido y pelargonidina diglicosido, también se determinó la presencia de dos flavonoides: 5,3',4'-trihidroxi-7-gli-flavanona y 5,3'-dihidroxi-4-O-metil-7-O-Rh-glucosil flavanona.^{17, 18}

Para la caracterización de los compuestos fenólicos se utilizó la espectroscopia ultravioleta, lográndose separar tres bandas a partir de la fracción de acetato de etilo (F1, F2 y F3) (Tabla 6 y Figura 4). La fracción F1 corresponde a un compuesto fenólico con una fluorescencia amarillo - verdoso y muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 209 nm, la fracción F2 corresponde a un compuesto fenólico con una fluorescencia anaranjada y muestra una absorbancia de 209 y 288 nm, la fracción F3 corresponde a otro compuesto fenólico con una fluorescencia violeta - purpura y muestra una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 209 - 297 nm,

El estándar utilizado fue ácido benzoico con una absorbancia máxima en el espectro ultravioleta a 230 270 nm. Por lo tanto podemos asumir que en la fracción F2 se trata de un derivado de los flavonoides que viene a ser las isoflavonas (Figura 4).

La piel constituye el tegumento externo del organismo, cumple diferentes funciones como: protectora, intercambio acuoso y térmico con el medio externo, síntesis de vitamina D, entre otras; por lo que su protección es de vital importancia para el mantenimiento del organismo como un todo.¹⁹ En este sentido, es de suponer que el desarrollo de formas farmacéuticas dermatológicas antioxidantes efectivas adquiere relevancia para la industria farmacéutica y que el desarrollo de cremas dermatológicas como las cremas, debe tener en consideración ciertos parámetros físicos y químicos especificados en los libros oficiales los que ofrezcan características farmacotécnicas adecuadas. En nuestro trabajo este aspecto se ve reflejado en las características organolépticas resultantes (Tabla 5); el color de las cremas, por ejemplo, dependen de la concentración de los compuestos fenólicos de las flores de "chinchilcoma" incorporados: la crema base es de color blanco nieve; la crema al 0,5 y 1,0 %, presentan un color crema claro, mientras que la crema al 2%, mostaza claro. El olor graso es característico a todas las cremas debido a que dentro de la fórmula se encuentran la vaselina líquida y el alcohol cetílico. Tienen, además un aspecto homogéneo lo cual es indicador de la buena

compatibilidad existente entre los compuestos fenólicos de las flores de "chinchilcoma" y los excipientes empleados.

Otra característica importante es el pH de la crema (Tabla 5). La crema base tiene un pH prácticamente neutro equivalente a 7,1; lo mismo que las cremas elaboradas a diferentes concentraciones, que tienen pH prácticamente neutro.

En la Tabla 6, se muestra el tipo de emulsión de las cremas elaboradas. Como resultado de las pruebas de dilución las cremas fueron insolubles en etanol, pero solubles en agua al mismo tiempo que adopta un aspecto homogéneo, por lo que se puede concluir que se trata de una emulsión OMV, es decir, de fase externa acuosa. Estos resultados se pueden contrastar con los obtenidos por Vicuña.²⁰

En la Figura 1, se muestra la extensibilidad de las cremas formuladas a base de compuestos fenólicos de las flores de "chinchilcoma". La caracterización reológica es fundamental en la investigación y desarrollo de formas farmacéuticas semisólidas como las cremas, debido a que las propiedades reológicas tienen una gran influencia en la estabilidad y en la textura de estos productos. En este estudio se consideran las determinaciones de extensibilidad y viscosidad debido a la relación existente entre estos parámetros para definir dicho comportamiento.²²

También se puede apreciar que la extensibilidad es directamente proporcional al peso aplicado hasta llegar a un punto donde la extensibilidad se hace constante. La Figura muestra que, sometida a 500g de peso, la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos de las flores de "chinchilcoma" a una concentración de 1% tiene mayor extensibilidad (91,1cm²), seguida de la crema al 2% (90,3cm²) y finalmente la de 0,5% (86,1cm²) ligeramente mayor que la crema base (84,3cm²).

Para la determinación de la actividad antioxidante de las cremas elaboradas se siguió el método de decoloración del DPPH, procedimiento estandarizado y de alta fiabilidad. Dado que existe un creciente interés en antioxidantes, particularmente en los destinados a impedir los efectos nocivos de los radicales libres en el cuerpo humano y la preferencia por los antioxidantes de origen natural, paralelamente aumenta también el uso de métodos para la estimación de la eficiencia de sustancias tales como antioxidantes. Uno de los métodos es el actualmente popular basado en el uso del radical libre estable difenilpicrilhidrazilo (DPPH).¹¹

Se sometió a evaluación tres concentraciones, 0,5, 1 y 2%, de cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos de las flores de *Mutisia acuminata*. R&P "chinchilcoma", a partir de las cuales, mediante diluciones, se preparó concentraciones de 100, 50, y 10 µg/mL.¹²

La Figura 2, nos muestra gráficamente el porcentaje de actividad secuestradora del radical libre DPPH por acción de las cremas. Es notorio el poder antioxidante de la crema: todas las concentraciones tienen actividad

antioxidante mayor al 50% incluso la de menor concentración. Es evidente que los compuestos fenólicos aislados que se incorporó a las cremas son desde el punto de vista químico potentes antioxidantes, los mismos que corresponderían al grupo de los flavonoides ya que son cuantitativamente más abundantes e importantes dentro de los compuestos fenólicos en general.

Los flavonoides son moléculas cuya actividad antioxidante ha sido demostrada ampliamente tanto *in vivo* como *in vitro*.

Las características cromatográficas y espectrales de los compuestos fenólicos aislados parecen ser coincidentes con los encontrados en otro estudio similar con la misma especie.¹⁷

Del mismo modo, el extracto acuoso de *Sanicula graveolens* (Apiaceae) y *Mutisia friesiana* (Asteraceae) mostraron actividad de captación de radicales en el ensayo de decoloración del DPPH. El aislamiento guiado por bioensayo condujo a derivados del ácido cafeico y flavonoides como los principales compuestos activos de ambas especies. Después de la hidrólisis, ácido cafeico y quercetina demostraron ser los principios bioactivos de ambas plantas.²²

CONCLUSIONES

1. Se aisló los compuestos fenólicos de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "
2. Se elaboró y se formuló las cremas a concentraciones de 0.5%, 1.0% y 2.0% respectivamente.
3. Las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" cumplen con los parámetros establecidos para una forma farmacéutica semisólida,
4. Las cremas elaboradas a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P "chinchilcoma" a las concentraciones de 0,5, 1 y 2 %, tienen actividad antioxidante, directamente proporcional a la concentración de compuestos fenólicos, donde la crema a diluciones de 100, 50, y 10 µg/mL, se obtuvo un porcentaje de 99.7, 98.2 y 84.8 % respectivamente, por lo tanto la crema concentrada al 2% tiene mayor actividad antioxidante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A; Fernando C, Lazarova Z, Bañuelos R, Sánchez S. Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. Revista Anacem. [revista en internet] junio 2012. [acceso marzo 2013]; Vol. 6(1): 48-58. Disponible en: <http://revista.anacem.cl/web/?p=1096>
2. Lampe J. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. Am J Clin Nutr. [revista en internet] 1999. [acceso marzo 2013]: 70(3):475S-490S. disponible

- en:
<http://ajcn.nutrition.org/content/70/3/475s.full>
3. Castañeda E, Ramos E, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico* [revista en internet]. 2008 [acceso febrero de 2013]; Vol. 8 N°1. Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008-I/Art4-Vol8-N1.pdf>.
 4. Zavaleta J, Muñoz A, Blanco T; Alvarado C, Loja B. Capacidad Antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Revista Horizonte Médico*. [revista en internet] 2005. [acceso marzo 2013] 2(5):29-38. Disponible en <http://www.revistasacademicas.usmp.edu.pe/uploads/articulos/f1a59-18-capacidad-antioxidante-y-principales-acidos-fenolicos-y-flavonoides-de-algunos-alimentos.pdf>
 5. Vila J. Tecnología Farmacéutica. Volumen II (Formas Farmacéuticas). 1ra Reimpresión. Edit. Síntesis S.A. Madrid – España. [revista en internet] 2001. [acceso marzo 2013]. Disponible en: <http://www.firp.ula.ve/archivos/tesis/04-MS-Rodriguez-jpdf>
 6. Pietrellini, F. Plantas medicinales en un piso alto y mesoandino. Estudio etnobotánico de la zona de Puquio-Ayacucho. Ayacucho: Editorial Graticenter; 2007.
 7. Aguilar FE. Estudio de los flavonoides aislados de las hojas de *Smilax sonchifolius* (yacón) y determinación de su actividad antioxidante y antirradicalaria. [Tesis de Maestría]. Lima: UNMSM; 2007.
 8. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de los productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da Edición. Fondo Editorial; 1994.
 9. Laboratorios Farmacéuticos Markos. Procedimiento de Operación Estándar; Fabricación de Productos semisólidos no estériles. Lima. 2004.
 10. DIGEMID. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos. Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas- Ministerio de Salud. RM N°055-99.SA/DM. Lima; 1999.
 11. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. [revista en internet] 2004. [acceso marzo 2014]; 26(2):211-219. Disponible en: <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb/journal/26-2/07-DPPH.pdf>
 12. Heberle G, Araujo M, Magri S. Cosmetic formulations containing blueberry extracts (*Vaccinium myrtillus*). *Journal of science and technology*. [revista en internet] 2012. [acceso marzo 2014]; 2(1). Disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/car/vol14_1_00/car08100.pdf
 13. Echavarría BZ, Franco AS, Martínez AM. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe colombiano. *Vitae*. [revista en internet] 2009. [acceso marzo 2014]; 16(1):126-131. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a15.pdf>
 14. Villar del Fresno A. Farmacognosia General. Barcelona: Editorial Síntesis. 1999.
 15. Castañeda B, Ramos E, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico* [revista en internet]. 2008 [acceso Abril de 2014]; Vol. 8 N°1. Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008-I/Art4-Vol8-N1.pdf>.
 16. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de los productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da Edición. Fondo Editorial; 1994.
 17. Juárez B, Menciondo M. Flavonoids from *Mutisia acuminata*. *Pharmaceutical Biology* [revista en internet]. 2003 [acceso marzo 2013]; 41(4):291-292. Disponible en: <http://www.encycognitive.com/files/Flavonoids20from%20Mutisia%20acuminata>.
 18. Yarlequé M, Bonilla P, Rueda L. Aislamiento de dos flavonoides de *Mutisia acuminata* "chinchilcoma" y su efecto sobre el plasma humano. *Anales de la Facultad de Medicina de la UNMSM* [artículo en internet] 2002. [acceso marzo 2013]; 63. Disponible en: <http://sisb.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v63sup/pdf/investigacionbasica.pdf>
 19. Concepción A, Fernández P, Fernández R, Mata M, Del Vallín Cruz T. Evaluación de extractos de algas marinas, con actividad antioxidante y reorganizadora de la fibra colágena. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. [revista en internet] 2001. [acceso marzo 2014]; 20(1):6-11. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S086403002001000100001&script=sci_arttext&lng=pt
 20. Vicuña Z. Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling "wayra muña". [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas; 2012.
 21. Signorelli I; Isla M. Elaboración de una crema para uso tópico a base de *Urtica dioica* L. *Revista de la Facultad de Farmacia*. [revista en internet] 2005. [acceso marzo 2014]; (47):2. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/23873>

22. Viturro C, Molina A, Schmeda-Hirschmann G. Free radical scavengers from *Mutisia friesiana* (Asteraceae) and *Sanicula graveolens* (Apiaceae). *Phytotherapy Research*. [revista en internet] 1999. [acceso julio 2014]; 1999; 13(5):422-424. Disponible en: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1099573\(199908/09\)13:5%3C422:AID-PTR462%3E3.0.CO;2-M/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1099573(199908/09)13:5%3C422:AID-PTR462%3E3.0.CO;2-M/abstract)