

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



Efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto  
hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia*

R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.

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

Presentado por el:

**Bach. PARIONA PAUCAR, Angel**

Ayacucho - Perú

2019

A mis padres, hermanos y amigos quienes desempeñaron un gran rol en mi formación como persona y futuro profesional brindándome sus consejos, afecto incondicional y creyendo siempre en mí.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi *alma mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por acogerme en sus aulas durante mi formación universitaria.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica por mi formación académica y la plana de docentes por trasmitirme sus experiencias y conocimientos científicos.

A mi asesor Dr. Q.F. Edwin Carlos Enciso Roca que accedió a brindarme su apoyo, paciencia y experiencia científica; y a todas las personas por su apoyo incondicional para hacer posible este proyecto de investigación.

## ÍNDICE

	Página
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	ix
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	xi
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	xiii
<b>RESUMEN</b>	xv
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	10
2.2.1. Taxonomía	10
2.2.2. Descripción botánica	10
2.2.3. Hábitad y distribución	10
2.2.4. Usos medicinales	11
2.2.5. Composición química del género <i>Baccharis</i>	11
2.3. Bases teóricas	11
2.3.1. Hepatotoxicidad	11
2.3.2. Antioxidante	15
<b>2.3.3. Relación Antioxidante y hepatoprotector</b>	19
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	21
3.1. Ubicación	21
3.2. Definición de la población y muestra	21
3.3. Tipo de investigación	22
3.4. Procedimiento metodológico para la recolección de datos	22
3.5. Análisis estadístico	25
<b>IV. RESULTADOS</b>	27
<b>V. DISCUSIÓN</b>	33
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	41
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	43
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	45
<b>ANEXOS</b>	53

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1 Antioxidantes enzimáticos.	16
Tabla 2 Antioxidantes no enzimáticos.	16
Tabla 3 Diseño experimental del efecto hepatoprotector en ratas, Ayacucho 2018.	24
Tabla 4 Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca" Ayacucho 2018.	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Esquema de los principales mecanismos patogénicos implicados en el desarrollo de alteraciones hepatotóxicas.	14
Figura 2	Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH).	19
Figura 3	Niveles de transaminasa glutámica oxalacética (GOT) al administrar el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca". en ratas, Ayacucho 2018.	30
Figura 4	Niveles de transaminasa glutámica pirúvica (GPT) al administrar el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca". en ratas, Ayacucho 2018.	31
Figura 5	Porcentaje de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.	32

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
ANEXO 1	Certificado de identificación botánica de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca". Ayacucho 2018. 55
ANEXO 2	Recolección de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca" en el distrito de Quinua provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho 2018. 56
ANEXO 3	Esquema de obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca" del distrito de Quinua provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho 2018. 57
ANEXO 4	Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca", secado, maceración, filtrado, concentración, extracto blando y preparación a diferentes concentraciones Ayacucho 2018. 58
ANEXO 5	Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca". Ayacucho 2018. 59
ANEXO 6	Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca". a diferentes concentraciones para la evaluación del efecto hepatoprotector: 200 mg/kg, 400 mg/kg y 600 mg/kg. Ayacucho 2018. 60
ANEXO 7	Flujograma de la evaluación del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca". Ayacucho 2018. 61
ANEXO 8	Análisis de varianza de los valores promedio de transaminasa glutámico oxalacética (GOT) por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca". Ayacucho 2018. 62
ANEXO 9	Prueba de Duncan para para los valores promedio de los niveles de transaminasa glutámico oxalacética (GOT) por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca". Ayacucho 2018. 63
ANEXO 10	Análisis de varianza de los valores promedio de transaminasa glutámico pirúvica (GPT) por efecto del

	extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.	64
ANEXO 11	Prueba de Duncan para para los valores promedio de los niveles de transaminasa glutámico pirúvica (GPT) por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.	65
ANEXO 12	Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante por el ensayo DPPH del extracto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.	66
ANEXO 13	Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.	67
ANEXO 14	Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.	68
ANEXO 15	Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.	69
ANEXO 16	Curva patrón de Absorbancia. vs Concentración de transaminasa glutámico oxalacética (GOT) Ayacucho 2018.	70
ANEXO 17	Curva patrón de Absorbancia. vs Concentración de transaminasa glutámico pirúvica (GPT) Ayacucho 2018.	70
ANEXO 18	Curva de calibración del trolox para determinar la actividad antioxidante por el método DPPH a longitud de onda 515 nm del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.	71
ANEXO 19	Protocolo para la preparación de los reactivos transaminasas GOT y GPT.	72
ANEXO 20	Tabla de conversión para el cálculo de resultados para determinar los valores de GOT y GPT.	73
ANEXO 21	Tabla de los valores normales de transaminasas GOT y GPT.	74
ANEXO 22	Matriz de consistencia.	75

## RESÚMEN

El género *baccharis* es tomado en cuenta para el tratamiento de diversas afecciones en el ser humano, este panorama nos ha motivado a estudiar una de sus especies teniendo como objetivos demostrar el efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca", recolectadas en el distrito de Quinua región Ayacucho. El presente trabajo de investigación experimental se ejecutó en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, la muestra seca se pulverizó y se maceró por catorce días con etanol de 80°, se sometió a tamizaje fitoquímico según la metodología de Miranda, en la evaluación del efecto hepatoprotector mediante la determinación enzimática de transaminasa glutámico oxalacética (GOT) y transaminasa glutámico pirúvica (GPT), se utilizaron ratas albinas de la cepa Holtzman, distribuidos aleatoriamente en 5 grupos, sometidos a un modelo experimental *in vivo* de hepatotoxicidad con paracetamol; posteriormente se obtuvo sangre directamente del corazón, éste se sometió a un análisis y se midieron los valores de transaminasas GOT y GPT según Bermúdez *et al.* La determinación de la actividad antioxidante se realizó por el método DPPH según Sousa *et al.* Los metabolitos secundarios encontrados en el tamizaje fitoquímico fueron: flavonoides, fenoles y taninos, azúcares reductores, lactonas y cumarinas, saponinas, resinas; los niveles transaminasas disminuyeron considerablemente, mostrando que el extracto hidroalcohólico tiene mejor efecto hepatoprotector a una concentración de 600 mg/kg, con respecto al efecto antioxidante se obtuvo un porcentaje más alto de 36,0 %, a una concentración de extracto hidroalcohólico de 100 µg/mL, usando como patrón al reactivo de trolox, por lo tanto, se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca", tiene una actividad hepatoprotectora y antioxidante.

**Palabras clave:** *Baccharis salicifolia*, hepatoprotector, antioxidante.

## I. INTRODUCCIÓN

El hígado es un órgano que se afecta en numerosos procesos inflamatorios como infecciones víricas, toxicidad por fármacos y sus metabolitos, procesos autoinmunes y distintos defectos genéticos. En los últimos años numerosas publicaciones sugieren que las reacciones adversas a fármacos son responsables de una mayor proporción de casos de lesión hepática constituyendo un desafío para el médico de atención primaria, al que acuden con frecuencia pacientes tratados con varios fármacos, que presentan muchas veces en el curso de revisiones rutinarias, una alteración en la analítica hepática<sup>1</sup>.

La cirrosis hepática constituye uno de los principales problemas de salud en el mundo, debido a su alta morbilidad y mortalidad. En el Perú, la cirrosis hepática con una tasa de mortalidad de 9,48 por 100000 habitantes ocupa el quinto lugar, en orden de magnitud entre las defunciones generales, el segundo lugar entre las enfermedades digestivas y hepatobiliares y es la segunda causa de muerte entre las defunciones registradas para el grupo etáreo de 20 a 64 años<sup>2</sup>.

También en Latinoamérica se obtienen altos índices de incidencia; tal es el caso de México y Perú, donde ocupa el séptimo lugar entre las causas de muerte<sup>3</sup>.

La importancia de los productos naturales para la medicina y la salud ha sido enorme. Dado que nuestros antepasados masticaban ciertas hierbas para aliviar el dolor, o envolvían las hojas alrededor de las heridas para mejorar la cicatrización, los productos naturales a menudo han sido el único medio para tratar enfermedades y lesiones. Durante las últimas décadas los productos naturales han desempeñado un papel secundario en el descubrimiento de fármacos y el desarrollo de fármacos, después del advenimiento de la biología molecular y la química combinatoria hicieron posible el diseño racional de compuestos químicos para dirigirse a moléculas específicas. En los últimos años, se ha visto un renovado interés en el uso de compuestos naturales, como base para el desarrollo de fármacos<sup>4</sup>.

El género *Baccharis* es incluido para el tratamiento de heridas, úlceras, fiebre, enfermedades gastrointestinales, diuréticos y analgésicos, y en el tratamiento de la diabetes y las infecciones bacterianas o fúngicas. La infusión de las hojas y ramas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca" se aplica externamente como tratamiento antiinflamatorio, para el dolor de cabeza, para la diarrea, para la disentería, antirreumático y antisifilítico<sup>4</sup>.

En otros estudios se demostró la presencia de flavonoides y antocianinas y otros compuestos, siendo los que se encontró en mayor cantidad, concluyendo que existe cierta similitud en la presencia de estos metabolitos como los flavonoides, etc. Donde se le infiere un probable efecto hepatoprotector a la actividad antioxidante de la flavona quercetina o trabajos donde en forma más específica se indica como los responsables de la actividad hepatoprotectora de los flavonoides presentes en esta planta<sup>5</sup>.

Este panorama nos ha motivado a estudiar el efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca", a diferentes dosis, empleando un modelo animal de daño hepático inducido con paracetamol, teniendo como indicadores de protección hepática las enzimas séricas, transaminasa glutámica oxalacética (GOT) y transaminasa glutámico pirúvica (GPT).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- Demostrar el efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *baccharis salicifolia* R. & P. "chilca" en ratas.

### **Objetivos específicos**

- Evidenciar la presencia de los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca" mediante reacciones químicas de coloración y precipitación.
- Determinar los niveles de transaminasas GOT y GPT.
- Determinar el porcentaje de la actividad antioxidante midiendo la captación de radicales libres (DPPH).

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

Muñoz *et al* <sup>6</sup>, en el año 2017 bajo un trabajo de investigación titulado “Efecto hepatoprotector de una mezcla de siete plantas en cirrosis inducida con tetracloruro de carbono”. Tuvieron como objetivo demostrar el efecto hepatoprotector de una mezcla de siete plantas (EHAM<sub>7</sub>) en ratas cirróticas inducidas con tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>), utilizaron las semillas de *L. usitatissimum* y las hojas y flores secas del resto de las plantas, formando grupos de ratas control y ratas cirróticas con y sin tratamiento con la mezcla. Los animales fueron sacrificados y se determinó el perfil hepático y lipídico en muestras de suero sanguíneo; el hígado se utilizó para los estudios histológicos, teniendo como resultados que el EHAM<sub>7</sub> mostró efecto hepatoprotector en los animales cirróticos, concluyendo que presenta efecto hepatoprotector en ratas cirróticas inducidas con CCl<sub>4</sub>, debido a que dicha mezcla presenta compuestos polifenólicos con actividad antioxidante.

Rabelo *et al* <sup>7</sup>, en el año 2017 en un trabajo de investigación titulado “El extracto acuoso de *Baccharis trimera* mejora el estado redox y disminuye la gravedad de la hepatotoxicidad alcohólica”. Demostraron que el extracto acuoso no era citotóxico en ninguna concentración probada, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antioxidante y hepatoprotector del extracto acuoso de *Baccharis trimera*, en un modelo de hepatotoxicidad inducida por etanol, pretrataron ratas macho Fisher con 600 mg/kg de extracto acuoso y 1h más tarde se administraron 5 mL/kg de etanol absoluto, se observó una disminución en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico (NO), Concluyendo que el tratamiento con el extracto mejoró la función hepática y el perfil lipídico, lo que refleja la reducción de las micro vesículas de lípidos en el hígado.

Sabira *et al* <sup>8</sup>, en el año 2017 realizaron una investigación titulada “Actividad antioxidante y perfil fenólico de *Baccharis trimera*”. Una planta medicinal de uso

común de Brasil que tuvo como objetivo probar el potencial de actividad antioxidantes *in vitro* e *in vivo*. El extracto acuoso mostró inhibición contra especies reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) inducidas por diferentes peroxidantes ( $\text{FeSO}_4$  10  $\mu\text{M}$  y nitroprusiato sódico 5  $\mu\text{M}$ ) en homogenados de hígado de rata, cerebro y fosfolípidos de yema de huevo. Además, las actividades de barrido de radicales libres del extracto se determinaron mediante la extinción de DPPH teniendo como resultados ( $\text{IC}_{50}$ ,  $415,2 \pm 15,2 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) y radicales hidroxilos en ensayos de desoxirribosa, concluyendo que la administración de dosis del extracto de 100 mg/kg y 250 mg/kg redujo significativamente la peroxidación de lípidos, aumentó la actividad de catalasa y mejoró los niveles de ácido ascórbico y glutatión reducido en el hígado de ratones.

Veiga *et al*<sup>9</sup>, en el año 2017 Llevaron a cabo una investigación titulada “Artepillin C y compuestos fenólicos responsables de la actividad antimicrobiana y antioxidante del propóleo verde y *Baccharis dracunculifolia*”. Donde la cantidad de Artepillin C en diferentes extractos se determinó por análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento. La concentración inhibitoria mínima 90 (MIC90) se determinó utilizando 40 aislamientos de *S. aureus* inoculados en medio de cultivo de agar Müeller-Hinton que contiene los extractos de propóleo verde y *B. dracunculifolia* DC. PVEE (extracto etanólico de propóleos verdes) y BDEH (extracto hexánico de *B. dracunculifolia*) mostraron la mayor actividad antimicrobiana con valores de MIC90 de  $246 \cdot 3$  y  $295 \cdot 5 \mu\text{g ml}^{-1}$  respectivamente. Los extractos etanólicos y hexánicos de propóleos verdes (PVEE y PVEH respectivamente) mostraron la mayor actividad antioxidante evaluada por DPPH (radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) con valores  $\text{IC}_{50}$  de 13,9 y  $95 \cdot 86 \mu\text{g ml}^{-1}$  respectivamente concluyendo que el propóleos verde etanólico muestra mejores actividades antimicrobianas y antioxidantes en comparación con otros extractos.

Pádua *et al*<sup>10</sup> en el año 2014 en el trabajo de investigación titulado “Efecto protector del extracto de *Baccharis trimera* sobre la lesión hepática aguda en un modelo de inflamación inducido por acetaminofén”. Tuvo como objetivo investigar el efecto protector contra el daño hepático inducido por acetaminofeno (APAP) en ratas. Se examinaron los marcadores de función hepática GOT y GPT, biomarcadores de estrés oxidativo, parámetros antioxidantes y cambios histopatológicos. El pretratamiento con *Baccharis trimera* atenuó las actividades séricas de GOT y GPT que se potenciaron con la administración de APAP.

Además, el pretratamiento con el extracto disminuye la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) y aumenta la actividad de la catalasa y la concentración de glutatión total. El análisis histopatológico confirmó el alivio del daño hepático y la reducción de las lesiones causadas por APAP.

Rezende *et al*<sup>11</sup>, año 2014 en el trabajo de investigación de título “Efectos protectores del extracto de hojas de *Baccharis dracunculifolia* contra la hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono y acetaminofeno en animales experimentales”. Evaluaron los efectos protectores del extracto de las hojas contra el tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) y la hepatotoxicidad inducida por paracetamol (APAP) en animales de experimentación, cuantificando el contenido total de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante por eliminación de radicales DPPH. Demostrándose que el pretratamiento con el extracto redujo significativamente el daño causado por CCl<sub>4</sub> y APAP en los marcadores séricos de lesión hepática, GOT y GPT. Los resultados fueron confirmados por análisis histopatológico. *Baccharis dracunculifolia* también mostró actividad antioxidante DPPH (IC<sub>50</sub> de 15,75 ± 0,43 µg/mL), y contenido fenólico total alto (142,90 ± 0,77 mg GAE/g) y flavonoide (51,47 ± 0.60 mg RE/g). Concluyendo así que el extracto de dicha planta si posee efectos hepatoprotectores.

Arellano *et al*<sup>12</sup>, en el año 2015; realizaron un estudio titulado “Evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres colores de pétalos de mastuerzo *Tropaeolum majus*”. Donde se evaluó el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Los pétalos de los colores de mastuerzo se acondicionaron para la extracción de sus componentes bioactivos, los que se cuantificaron mostrando diferencia significativa (p<0,05) entre colores. La mayor concentración de fenoles totales se encuentra en el color anaranjado, seguido por el rojo y el amarillo (917,05; 799,35 y 442,02 mg AGE/g de muestra). Con respecto a la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS, el mayor contenido se encuentra en el color anaranjado, seguido por el rojo y amarillo (3928,226; 3286,163 y 2500,887 µM TE/g de muestra), (622,92; 608,15 y 587,01 µM TE/g de muestra), concluyendo que las muestras si presentan actividad antioxidante, aunque lo ideal sería medir la actividad antioxidante de cada componente de la muestra por separado. Así mismo, menciona los diferentes métodos tales como: DPPH, ASTS, FRAP y ORAC.

Ganoza *et al*<sup>13</sup>, en el año 2015 ejecutaron un trabajo de investigación titulado “Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de extractos de especies

vegetales de Cachicadan, La Libertad – Peru” En este trabajo se determinaron los compuestos fenólicos totales (CFT) y la actividad antioxidante en 3 extractos hidroalcohólicos (96°,70°y 45° ) y 2 extractos acuosos de 5 especies vegetales recolectadas del cerro “botica” del distrito de Cachicadán, provincia de Santiago de Chuco, región La Libertad. El CFT se determinó mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu, utilizando como estándar de referencia al ácido gálico y la actividad antioxidante se determinó mediante el reactivo de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). Encontrando valores entre 9,5 y 161,4 mg/g de CFT expresados en ácido gálico y valores de IC entre 0,10 y 500,73 mg/mL. Se concluyó que, en la mayoría de las especies vegetales estudiadas, los extractos de etanol a 45° presentaron el mayor contenido de CFT y la especie vegetal con mejor actividad antioxidante fue *Vallea stipularis*.

Whu y Yolanda<sup>14</sup>, en el año 2014 Llevaron a cabo un trabajo de investigación titulado “Actividad energética y hepatoprotectora de las hojas de *Baccharis lanceolata*” comprobando el efecto energético y hepatoprotector que puede producir el extracto acuoso de *Baccharis lanceolata* H.B.K. en la cadena respiratoria. En relación con el efecto energético se evaluó la actividad respiratoria en mitocondria de hígado de rata a través del control respiratorio, actividad de la enzima ATPasa mediante hidrólisis del ATP y actividad Citocromo oxidasa; hepatoprotección en ratas administrándoles el extracto vía oral 14 mg/kg. Las mitocondrias de hígado fueron obtenidas por centrifugación diferencial a 4 °C, teniendo como resultados: Actividad respiratoria de los controles con los tratados fueron para el 1º mes 13,31 y 19,08, 2º mes 14,55 y 21,18 y 3º mes 15,15 y 23,63 de O<sub>2</sub>/mg de proteína (p < 0,001). Actividad Citocromo oxidasa Control 0,333, tratados en el 1º mes 0,403, 2º mes 0,547 y 3º mes 0,613 µ/g de proteína (p < 0,001). Actividad ATPasa: Control 57,10, tratadas 1º mes 64,98, 2º mes 67,95 y 3º mes 69,50 µM de P/mg de proteína (p < 0.001). GPT: Control 28,33 U/l, 1º mes 25,06 U/l, 2º mes 12,0 U/l y 3º mes 30,5 U/l (p < 0,001). GOT: Control 35,83 U/l, 1º mes 25,61 U/l, 2º mes 12,50 U/l y 3º mes 37,16 U/l (p < 0,001). Concluyendo que el extracto acuoso aumenta la actividad del control respiratorio, enzima ATPasa, enzima Citocromo oxidasa; siendo la protección dependiente del tiempo. Diaz *et al*<sup>15</sup>, en el año 2012 en el trabajo de investigación titulado “Actividad antiinflamatoria de una crema a partir del extracto purificado de *Baccharis Tricuneata*”. El extracto de acetato de etilo se obtuvo a partir del extracto etanólico por sucesivos fraccionamientos utilizando solventes de polaridad creciente. Se

realizó la identificación de flavonoides en los extractos mostrando mayor presencia en el extracto de acetato de etilo, se formuló y evaluó la actividad antiinflamatoria de una crema elaborada a partir del extracto de acetato de etilo a varias concentraciones. La evaluación farmacológica se realizó por el método de edema auricular inducido por aceite de Crotón, la crema al 30% mostró actividad antiinflamatoria del 71.43%. Se atribuye a los flavonoides la actividad antiinflamatoria encontrada ya que existen reportes de su gran poder de estabilizar membranas y los radicales oxidantes.

Troncoso y Guija<sup>16</sup>, en el año 2008, determinaron en su trabajo de investigación “Efecto antioxidante y hepatoprotector del perejil *Petroselinum sativum* en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol”. Donde se le administraron por vía oral diariamente, durante 5 días: paracetamol 200 mg/kg de peso corporal para inducir la intoxicación hepática y, al mismo tiempo, un fármaco hepatoprotector (FHP): Purinor®) o natural (perejil); además, un grupo de paracetamol solo y otro de control, luego los animales fueron sacrificados. En suero sanguíneo se determinó transaminasa GOT y GPT y gamma glutamil transferasa (GGT), grupos sulfhidrilo, proteínas totales y albúmina sérica; y en el homogenizado citosólico de hígado, fracción posmitocondrial, se determinó superóxido dismutasa, catalasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, grupos sulfhidrilo, especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) o radicales libres y proteínas. Además, se realizó el estudio histopatológico del hígado, para identificar signos de necrosis y signos de regeneración postnecrótica, teniendo como resultados que el perejil mostró un mejor efecto hepatoprotector que el FHP, frente a la acción nociva del paracetamol, evaluado por GOT, GPT y GGT. La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa ( $p < 0,05$ ,  $p = 0,01$ , prueba Kruskal-Wallis) y las TBARS ( $p < 0,001$ ,  $p = 0,000$ , prueba Kruskal-Wallis) permitieron mostrar que existió diferencia estadísticamente significativa entre todos los grupos.

Huayanay F<sup>17</sup>, en su trabajo realizado el año 2014 de título “Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium*”. Tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* "santa maría", empleando la técnica in vitro del DPPH y el modelo in vivo de edema plantar inducida por carragenina en ratas Wistar. Se ensayó concentraciones de 1, 2 y 3% en ungüentos base como vehículo semisólido usando el estándar de referencia diclofenaco gel 1%. El extracto hidroalcohólico

contiene fenoles y taninos, flavonoides, faetonas y/o cumarinas, triterpenos y/o esteroides y aminoácidos. La concentración de extracto hidroalcohólico con mayor actividad antiinflamatoria fue al 3%, con un porcentaje de desinflamación del 84,6% porcentaje de inflamación de 15,4%. La concentración de extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* con mayor actividad antioxidante tuvo un porcentaje de 63,9%. Se concluye que el extracto hidroalcohólico tiene poca actividad antioxidante *in vitro*, pero buena actividad antiinflamatoria *in vivo* estadísticamente similar al diclofenaco por lo que constituyen una fuente potencial para el tratamiento antiinflamatorio tópico.

Palomino K<sup>18</sup>, en el año 2014 en su trabajo de investigación titulado "Efecto sobre la hiperplasia prostática benigna del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides*". Encontraron en el tamizaje fitoquímico presencia de flavonoides, fenoles y/o taninos, azúcares reductores, catequinas, lactonas, cumarinas, triterpenos y/o esteroides y saponinas. Los resultados muestran que dosis de 400mg/kg de extracto redujo el incremento de peso de peso de la próstata en 0,805g al igual que el estándar en 0,842 seguido de la dosis de 200 y 100mg/kg en 0,805g y 0,916g respectivamente, finalmente el porcentaje de inflamación a dosis de 400mg/kg de extracto presento 40,07%; el estándar con 40,33% las dosis de 100 y 200 mg/kg con 52,64% y 34,22% y el control presento un 85,68% de inflamación. Por lo tanto, la dosis de 200 y 400 mg/kg respectivamente de extracto tuvo mejor respuesta comparado con el estándar (finasterida); concluyendo que el extracto presenta buena eficacia terapéutica.

Tenorio J<sup>19</sup>, en el año 2014 en su trabajo de investigación titulado "Capacidad antioxidante y el efecto citoprotector del tocosh de *Solatium tubersum* "papa" en la mucosa gástrica de animales de experimentación". Empleó la decocción del tocosh seco y molido. Para evaluar la actividad farmacológica se indujo injuria con etanol 70% a 10 ml/Kg, luego por laparotomía abdominal bajo anestesia etérea se obtuvo el tejido gástrico. El efecto citoprotector se midió según el porcentaje de tejido protegido en imagen digitalizada usando el software ASSES S y la capacidad antioxidante mediante el método TBARS. Se trabajó con 6 grupos tratamiento de ratas albinas machos (200 ± 50 g) divididos en: (GI) NaCl 0,9% a 10 mL/Kg; (GII) etanol al 70% a 10 ml/Kg; (GIII, IV y GV) Tocosh de *Solanum tuberosum* "papa" equivalente a 900 mg7Kg, 1800 mg/Kg y 2700 mg/Kg, respectivamente y (GVI) sucralfato a 30 mg/Kg. Las dosis de 2700 mg/Kg y 900 mg/Kg reportan 0,72 y 1,81 nmol/g tejido de lipoperoxidación, respectivamente. La

dosis de 1800 mg/Kg protege un 97,07% del área de la mucosa gástrica; 2700 mg/Kg, un 95, 54% y la de 900 mg/Kg, un 88,17% (p 0.05) la dosis de 1800 mg /kg exhibe mejor el efecto citoprotector y la de 2700mg/kg mejor actividad antioxidante comparada con el sucralfato 30mg/kg se concluye que el tococh tiene efecto citoprotector y antioxidante.

Valdez R<sup>20</sup>, en el año 2014 determinó el contenido de fenoles y flavonoides totales en su trabajo de investigación titulado “Estudios de fenoles totales y flavonoides totales en *Oenothera rosea* “Yawar suqu”, *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca” y *Piper elongatum* vahl “matico”, donde al comparar el contenido de fenoles y flavonoides totales de las tres muestras, en equivalente de ácido cafeico y quercetina, pudo concluir que el *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca”, presento 12,62%, *Oenothera rosea* ait “Yawar suqu 6,42% y *Piper elongatum* vahl “matico” 3,88% de fenoles totales. El contenido de flavonoides fue *Oenothera rosea* ait “Yawar suqu 8,32%, *Piper elongatum* vahl “matico” 6,21% y *Baccharis salicifolia* R. & P.” chilca” presento cantidades superiores de fenoles y flavonoides totales frente a *Oenothera rosea* ait “Yawar suqu y *Piper elongatum* vahl “matico”.

Aguilar *et al*<sup>21</sup>. En su trabajo de investigación realizado el año 2006 titulado “Etnobotánica, fitoquímica y farmacología de especies del género *baccharis* (asteraceas) utilizadas como plantas medicinales en el departamento de Ayacucho – Perú”. Tuvieron como objetivo estudiar tres especies de género *Baccharis*. Las especies fueron identificadas como *B. salicifolia*, *B. genistelloides*, *B. glutinosa* realizaron ensayos fitoquímicos, la actividad antiinflamatoria y antioxidante. Se aislaron flavonoides del tipo flavona y flavonona de las hojas de las tres especies en estudio. *Baccharis. salicifolia* demostró tener mejor actividad antiinflamatoria (p 0,05) y antioxidante (p 0,05) que *B. genistelloides* y *B. glutinosa*; obteniendo % de inhibición de la capacidad antioxidante de *B. sacillifolia* de 91,57%, 91,35%, 75,70% a las concentraciones (300 µg/ml; 150 µg/ml; 30 µg/ml). Se concluye que en un ensayo *in vitro* *Baccharis salicifolia* presenta actividad antioxidante.

## 2.2. Marco conceptual

### *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca”

#### 2.2.1. Taxonomía

Según el sistema de clasificación de Cronquist. A.1988 y es como sigue:

DIVISION	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: ASTERALES
FAMILIA	: ASTERACEAE
GÉNERO	: <i>Baccharis</i>
ESPECIE	: <i><b>Baccharis salicifolia R.&amp; P.</b></i>
SINONIMIA	: <i><b>Baccharis lanceolata (Kunth.)</b></i>
N.V	: “chilca”

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

#### 2.2.2. Descripción botánica

*Baccharis* es uno de los géneros más grandes de la familia Asteraceae. Por lo general son arbustos perennes de 50 cm a 4 m de altura, ocasionalmente árboles pequeños y hierbas, casi todos dioicos<sup>22,23</sup>.

*Baccharis salicifolia* “chilca” es un arbusto de porte bajo, perennifolio, propio de zonas templadas y templado-frías; de hojas simples alargadas salicifolias de color verde claro, de bordes ligeramente aserrados, alternas, sin estípulas, y de consistencia pegajosa debido a la presencia de abundante resina. Flores pequeñas, tubuladas, agrupadas en inflorescencias típicas en cabezuelas o capítulos, frutos pequeños aquenios provistos de vilano característico que le sirve como elemento de dispersión<sup>24</sup>.

#### 2.2.3. Hábitat y distribución

El género *Baccharis* pertenece a la familia Asteraceae, que representa la familia más numerosa de angiospermas con más de 1500 géneros y más de 20000 especies. Las asteráceas ocupan el segundo lugar entre las familias más diversas de la flora peruana. Esta familia es reconocida en el Perú por presentar alrededor de 245 géneros y 1530 especies. El género *Baccharis* es exclusivamente americano y presenta 250 especies, 70 de las cuales están presentes en el Perú y 20 de estas son endémicas<sup>25</sup>.

El género *Baccharis* está distribuido principalmente en Brasil, Argentina, Colombia, Chile y México, ocupando las regiones más altas. La alta concentración de especies en Brasil y los Andes indica que una de esas áreas es el probable centro de origen de ese género<sup>26</sup>.

En nuestro país, *Baccharis salicifolia* “chilca” se desarrolla en zonas situadas entre los 2600 y 3500 msnm. En estado silvestre, sobre suelos pobres en sales nutrientes, a veces como integrante de la vegetación monte ribereña<sup>24</sup>.

#### **2.2.4. Usos medicinales**

Los usos medicinales tradicionales de especies del género *Baccharis* incluyen el tratamiento de heridas y úlceras, fiebre, enfermedades gastrointestinales, como espasmolíticos, diuréticos y analgésicos, también en el tratamiento de la diabetes y las infecciones bacterianas o fúngicas. La infusión de las hojas y ramas de *Baccharis salicifolia* R. & P “chilca”. se aplica externamente como tratamiento antiinflamatorio. La decocción de las hojas y tallos es utilizada en la higiene femenina, también como diaforético, para el dolor de cabeza, para la diarrea, para la disentería, antirreumático y antisifilítico<sup>27</sup>.

En la provincia de Jauja, departamento de Junín, los pobladores preparan el cocimiento de hojas y tallos jóvenes y lo beben para eliminar los parásitos<sup>28</sup>.

También se usa como antiinflamatorio en luxaciones, torceduras, heridas, golpes, inflamaciones articulares y de las vías urinarias. Se ha descrito su uso como analgésicos en la migraña, en dolores corporales y dolores menstruales<sup>29</sup>.

#### **2.2.5. Composición química del género *Baccharis***

La composición química del género *Baccharis* se ha estudiado extensamente desde principios de 1900. A la actualidad, se han aislado e identificado más de 150 compuestos. Los compuestos más significativos son aceites esenciales, diterpenoides, triterpenoides y compuestos fenólicos como flavonoides, cumarinas y derivados fenólicos simples, como ácidos fenólicos<sup>27</sup>.

Los flavonoides, junto con diterpenos, son compuestos más frecuentes en el género *Baccharis* y como buenos marcadores químicos para los niveles inferiores de la familia. Se presentan normalmente como agliconas libres y muy raramente en la forma glicosilada, característica de la familia Asteraceae<sup>26,30</sup>.

### **2.3. Bases teóricas**

#### **2.3.1 Hepatotoxicidad**

La hepatotoxicidad (HTX) se define como la lesión o daño hepático causado por la exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos. Con el término

reacción medicamentosa adversa se designa a la aparición de efectos deletéreos no intencionales que se producen con dosis farmacológicas utilizadas con fines profilácticos y terapéuticos<sup>1</sup>.

#### **2.3.1.1. Hepatotoxicidad por fármacos**

Existen dos tipos de hepatotoxicidad: intrínseca e idiosincrásica. La hepatotoxicidad intrínseca, o dosis dependiente, es predecible y reproducible y ocurre con una minoría de fármacos. Mientras algunas de estas hepatotoxinas actúan directamente sobre el hepatocito, otras lo hacen a través de un compuesto tóxico generado durante su metabolismo cuyo ejemplo más característico es el paracetamol. Otros ejemplos de hepatotoxicidad intrínseca son los producidos por el ácido acetilsalicílico, la intoxicación por setas (*Amanita phalloides*) y las alteraciones hepáticas producidas por productos industriales como el tetracloruro de carbono. La hepatotoxicidad idiosincrásica, en cambio, ocurre de modo impredecible, no se relaciona con la dosis y no es reproducible en animales de experimentación. Esta última a su vez se divide en idiosincrasia metabólica e inmunoalérgica<sup>1</sup>.

Una minoría de fármacos causa lesión hepática de forma intrínseca (dependiente de la dosis), predecible y reproducible. En cambio, la hepatotoxicidad idiosincrásica aparece en 1 de cada 10000 - 100000 pacientes que ingieren el fármaco a dosis terapéutica, está determinada por la susceptibilidad individual, puede aparecer tras un período de tolerancia y producir manifestaciones clinicopatológicas desiguales y es la que plantea mayores problemas desde el punto de vista del diagnóstico del proceso<sup>31</sup>.

#### **2.3.1.2. Biotransformación de fármacos en el hígado**

Este proceso se verifica en dos fases: la fase 1 incluye un conjunto de reacciones catalizadas por el complejo citocromo P450, que aumentan la solubilidad del agente tóxico generando, a su vez, metabolitos químicamente activos y potencialmente tóxicos. La fase 2 incluye reacciones de conjugación con compuestos endógenos por medio de transferasas. Al final de la fase 2, los productos activos generados en la fase 1 se vuelven relativamente inertes y disponibles para su eliminación del organismo. El complejo citocromo P450 comprende un grupo de enzimas localizadas en el retículo endoplasmático del hepatocito, que cuenta con unas 50 isoformas relacionadas entre sí, de las cuales 6 de ellas metabolizan un 90 % de los xenobióticos. Existe una gran diversidad en los genes que codifican los citocromos P450 individuales y esta heterogenicidad

le permite al hígado oxidar en una enorme variedad de compuestos químicos, durante la fase 1. Hay tres elementos en el sistema P450 que juegan un papel importante en la toxicidad inducida por medicamentos. La diversidad o polimorfismo genético, causante de la variabilidad en el metabolismo de fármacos entre un individuo y el otro. Este polimorfismo es de gran importancia frente a la sensibilidad o resistencia a los efectos del medicamento a dosis terapéuticas y es responsable de las respuestas entre una persona y otra en especial cuando se trata de etnias diferentes. El cambio en actividad enzimática producido por medicamentos que ejercen influencia positiva o negativa sobre la actividad de los sistemas P450. Los fármacos que la modifican se conocen como inhibidores o activadores. Los inhibidores impiden la actividad de una o varias enzimas P450, los activadores aumentan su actividad porque elevan su expresión genética y aumentan la velocidad de biotransformación de los fármacos con consecuencias terapéuticas importantes. Algunos fármacos pueden compartir especificidad por la misma enzima P450 compitiendo por su biotransformación<sup>32</sup>.

### **2.3.1.3. Tipos de lesión hepática producida por fármacos**

**a. Necrosis hepatocelular.** Lo más común es encontrar necrosis de las células hepáticas confinadas en las zonas periportal o perivenosa del lóbulo hepático. Se manifiesta con altos niveles sanguíneos de GPT y disfunciones hepáticas severas que con el tiempo conlleva a insuficiencia hepática aguda. Las causas más frecuentes son las intoxicaciones por acetaminofeno y el tetracloruro de carbono<sup>31</sup>.

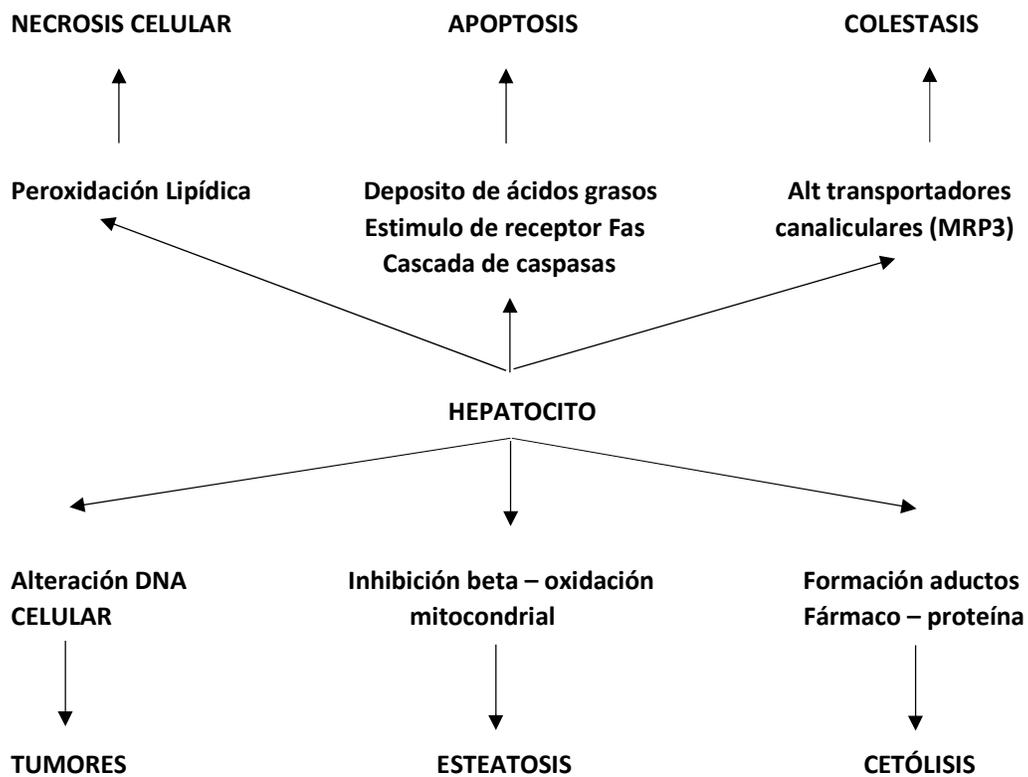
**b. Hepatitis.** Es otra forma de necrosis hepatocelular, asociada a infiltración de células inflamatorias. Pueden aparecer tres tipos de hepatitis inducida por fármacos: tipo viral causada por halotano, isoniacida y fenitoína; la focal o no específica, caracterizada por focos esparcidos que acompañan al infiltrado linfocítico. Un ejemplo de este tipo de lesión es la producida por la aspirina; y la crónica, cuadro clínico, serológico e histológico similar a la hepatitis autoinmune. Actúan de este modo las intoxicaciones por metildopa y diclofenaco<sup>32</sup>.

**c. Colestasis.** El daño hepático produce un trastorno en el flujo biliar, en el que predomina la ictericia. Se puede detectar inflamación (hepatitis colestásica) o sin inflamación (parenquimatosa). Producen colestasis la píldora anticonceptiva, anabolizantes androgénicos esteroideos y andrógenos. La inflamatoria está producida por: alopurinol, carbamazepina, clorpromazina, flucloxacilina, etc<sup>32</sup>.

**d. Esteatosis.** La hepatotoxicidad puede manifestarse por acúmulo de triglicéridos lo que conlleva al hígado graso micro o macro vesicular. Otro tipo de esteatosis

se produce por acumulación de fosfolípidos y produce un patrón similar a las enfermedades con defectos congénitos del metabolismo lipídico. Causas: aspirina, cetoprofen, tetraciclina, acetaminofeno, metotrexato, amiodarona y nutrición parenteral absoluta, entre otros<sup>28</sup>.

En resumen, los mecanismos de hepatotoxicidad incluyen la necrosis celular por peroxidación lipídica, la apoptosis, el estrés oxidativo, la formación de metabolitos reactivos que pueden llevar a reacciones inmunológicas o autoinmunes, y las alteraciones de la función mitocondrial<sup>1</sup>.



**Figura 1.** Esquema de los principales mecanismos patogénicos implicados en el desarrollo de alteraciones hepatotóxicas<sup>1</sup>.

#### 2.3.1.4. Diagnóstico de hepatotoxicidad

Dado que no existen marcadores específicos de hepatotoxicidad, el diagnóstico clínico puede llegar a ser muy difícil y requiere de una alta sospecha clínica por parte del médico. Este diagnóstico se basará fundamentalmente en la realización de una historia clínica exhaustiva y en descartar otras causas de lesión hepática<sup>25</sup>.

Las reacciones adversas que afectan al hígado son más difíciles de definir, por lo que dicho concepto ha sido establecido por reuniones de consenso e incluye, al menos, una de las siguientes alteraciones de los análisis bioquímicos hepáticos: 1) aumento de GOT superior a dos veces el límite alto de la normalidad, 2) aumento de la concentración de bilirrubina directa sérica más de dos veces el límite alto de la normalidad, 3) aumento GPT, fosfatasa alcalina (FA) y la concentración total de bilirrubina, siempre que uno de ellos supere más de dos veces el límite alto de la normalidad<sup>1</sup>.

### **2.3.2. Antioxidante**

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades. Otra de las funciones de los antioxidantes es facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno, formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales oxidantes también conocidos como radicales libres (moléculas inestables de alta energía con electrones desapareados en sus órbitas exteriores, que tienden a reaccionar con otros compuestos) y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y el sistema no enzimático; también conocidos como endógenos y exógenos respectivamente, los cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular. El sistema no enzimático está integrado principalmente por sustancias como las vitaminas A, E, C, carotenoides y los minerales selenio y zinc. Se ha documentado científicamente en muchos casos que los antioxidantes son potenciadores de la salud y que su utilización supone entre otras cosas la prevención de enfermedades crónicas y no transmisibles como algunos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares entre otras, de ahí la importancia del consumo de alimentos con un alto contenido de sustancias antioxidantes como las frutas y vegetales. Los antioxidantes podemos agrupar<sup>33</sup>.

**Tabla 1.** Antioxidantes enzimáticos

<b>Antioxidante</b>	<b>Ubicación Celular</b>	<b>Función Fisiológica</b>
<b>Superóxido dismutasa</b>	Citoplasma (SOD-1) Mitocondria (SOD-2) Extracelular (SOD-3)	Dismutación de radicales superóxidos.
<b>Glutatión peroxidasa</b>	Citoplasma y mitocondria	Elimina el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos.
<b>Catalasa</b>	Citoplasma y mitocondria	Elimina peróxido de hidrógeno.

**Fuente:** Clasificación de los antioxidantes <sup>34</sup>.

**Tabla 2.** Antioxidantes no enzimáticos

<b>Antioxidante</b>	<b>Función Fisiológica</b>
<b>Vitamina E</b>	Capta los radicales libres en membrana evitando La lipoperoxidación.
<b>Vitamina C</b>	Efecto eliminador de radicales y recicla la vitamina E. Ambas vitaminas C Y E trabajan como antioxidantes.
<b>Glutatión</b>	Tiene varios efectos en la defensa antioxidante celular.
<b>Ácido lipóico</b>	Antioxidante y sustitutos eficaces del glutatión.
<b>Carotenoides</b>	Antioxidante de lípidos.
<b>Ubiquinonas Co Q 10</b>	Efectos de gran utilidad como antioxidante.
<b>Fenoles</b>	Son compuestos con gran actividad antioxidante presentes en frutas, cereales, y hojas de diversas plantas.

**Fuente:** Clasificación de los antioxidantes <sup>34</sup>.

### **2.3.2.1. Radical libre**

Se considera radical libre o especie reactiva de oxígeno aquella molécula que en su estructura atómica presenta un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración que genera una alta inestabilidad <sup>35</sup>.

#### **Fuentes endógenas de radicales libres**

Podemos distinguir cuatro fuentes endógenas que originan la mayoría de los

agentes oxidantes producidos por las células<sup>36</sup>.

- En el transcurso normal de la respiración aeróbica, las mitocondrias consumen  $O_2$  reduciéndolo en varias etapas a  $H_2O$ . Inevitablemente, a lo largo de este proceso aparecen subproductos como el  $O_2$ ,  $H_2O_2$  y  $OH^-$ .
- Las células fagocíticas (leucocitos, neutrófilos, macrófagos y eosinófilos) al activarse por medio de mediadores proinflamatorios o de productos bacterianos, víricos o de parásitos, destruyen las células infectadas por medio de un ataque oxidativo (literalmente una “explosión” oxidativa) en el que se producen grandes cantidades de  $O_2$ ,  $H_2O_2$  y  $OH^-$ . Las infecciones crónicas llevan a una actividad fagocítica continua que provoca una inflamación crónica que es el principal factor de riesgo del cáncer.
- Los peroxisomas, orgánulos encargados de la degradación de ácidos grasos y otras moléculas produce,  $H_2O_2$  como subproducto, que es degradado de forma natural por la enzima catalasa. Bajo ciertas condiciones, algunos de los peróxidos escapan la degradación y se libera a otros compartimentos celulares provocando un incremento del daño por oxidación en el ADN.
- Las enzimas del complejo Citocromo P450, son las principales responsables del metabolismo oxidativo de los xenobióticos. La inducción de estas enzimas previene los efectos de toxicidad aguda de agentes extraños al organismo, pero también produce subproductos oxidantes que pueden dañar el ADN.<sup>37</sup>

### **Fuentes exógenas de radicales libres**

Entre las principales fuentes exógenas de radicales libres destacan<sup>36,37</sup>.

- Los óxidos de nitrógeno del humo de tabaco.
- Las sales de hierro y cobre que promueven la generación de radicales oxidantes a partir de peróxidos.
- Los alimentos que ingerimos a través de la dieta, especialmente los de origen vegetal, que se oxidan en mayor o menor grado generando diferentes tipos de oxidantes como peróxidos, aldehídos, ácidos grasos oxidados y metales de transición.

### **Estrés oxidativo**

En condiciones fisiológicas, en el organismo existe un equilibrio entre las sustancias oxidantes (radicales libres) y las defensas antioxidantes. Cuando se produce un desequilibrio por una mayor producción de sustancias oxidantes, los sistemas antioxidantes del organismo disminuyen y aparece el denominado estrés oxidativo que se caracteriza, por un desequilibrio del balance oxidantes y

antioxidantes, a favor de los primeros. Debido a que las defensas no son completamente eficientes, es probable que la formación incrementada de radicales libres en el cuerpo aumente el daño celular. El término de estrés oxidativo se emplea frecuentemente para referirse a este efecto. Si ocurre estrés leve, visualmente los tejidos responden mediante la producción de defensas antioxidantes extras; sin embargo, un estrés oxidativo severo puede originar injuria celular y la muerte<sup>38</sup>.

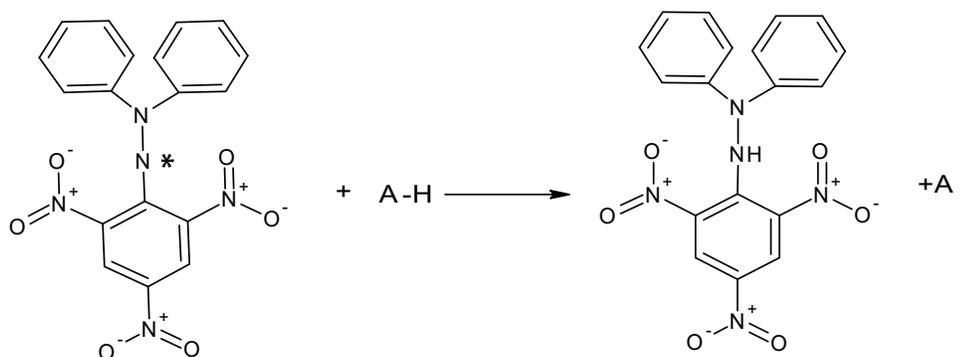
### **2.3.2.2. Ensayo del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)**

El fundamento del método consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante; la absorbancia es medida espectrofotométricamente a 515 nm; la diferencia de absorbancia permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres<sup>39</sup>.

Se determinó la actividad antioxidante como la disminución en la absorbancia de DPPH en diez minutos usando Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) como estándar. Los datos se tomaron cada 30 segundos para realizar la cinética<sup>40</sup>.

El DPPH es el método de neutralización de radicales libre 2,2-difenildipicrilhidracil. El radical libre y estable DPPH, es una sustancia que mide la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante, Este método es empleado para sustancias liposolubles o hidrosolubles<sup>41</sup>.

La solución del reactivo de DPPH es color violeta y con una absorción de 515 nm. La reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (antioxidante) por el radical libre DPPH, desarrollando un cambio de color violeta a amarillo, al disminuir la concentración del radical libre. El grado de esta decoloración indica la capacidad del antioxidante de secuestrar al radical libre; el que se lee al espectrofotómetro después de treinta minutos de reacción<sup>42</sup>. El dato se expresa normalmente como valor EC50, es decir, la concentración del antioxidante necesaria para inhibir el 50% de los radicales DPPH en un periodo de tiempo determinado<sup>41</sup>.



1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (radical libre)

1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (no radical)

Morado

Amarillo

**Figura 2:** Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH)<sup>40</sup>.

### 2.3.2.3. Trolox (6- hidroxil-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-acido carboxílico)

Es un antioxidante como la vitamina E y análogo de esta. Se utiliza en aplicaciones biológicas o bioquímicas para reducir el estrés oxidativo o daño. La capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) es una medida de la fuerza antioxidante basado en Trolox. Debido a las dificultades para medir componentes antioxidantes individuales de una mezcla compleja (como los arándanos o los tomates), Trolox equivalencia se utiliza como referencia para la capacidad antioxidante de una mezcla de este tipo. Equivalencia de Trolox se mide con mayor frecuencia usando el ABTS ensayo de decoloración. El ensayo TEAC se utiliza para medir la capacidad antioxidante de los alimentos, bebidas y suplementos. El Trolox es universalmente empleado como estándar en (las curvas de comparación de) diversos ensayos de actividad antioxidante (como ORAC, TEAC). En el caso del ensayo ORAC, la actividad antioxidante se expresa como micromoles de Equivalentes Trolox (ET) por unidad de peso o de volumen de la muestra analizada (generalmente, por 100 g de peso fresco o 100 mL)<sup>40</sup>.

### 2.3.2. Relación antioxidante y hepatoprotector

El paracetamol ha sido utilizado en diversos estudios, habiendo mostrado en ratas y ratones que tiene la propiedad de inducir lipoperoxidación y daño irreversible en el hepatocito, probablemente causados por radicales libres.

Los radicales libres de oxígeno son compuestos químicos caracterizados por poseer uno o más electrones desapareados, Algunos de ellos son extremadamente reactivos, como el radical hidroxilo (OH), otros menos reactivos como el radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) y el peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), que por definición no es considerado un radical libre de oxígeno, pero es potencialmente

capaz de generar fácilmente OH. Los radicales libres pueden formarse intracelularmente en los peroxisomas, en la cadena transportadora de electrones, durante la fagocitosis, la autooxidación o como consecuencia de la interacción de metales de transición, como el hierro o cobre con ascorbato o peróxido de hidrogeno. Ciertos compuestos químicos ingeridos en la dieta, diversas sustancias tóxicas (humo del cigarrillo), radiaciones electromagnéticas, ozono y algunos medicamentos (paracetamol) pueden ejercer su acción nociva en el organismo a través de la generación de radicales libres, los que pueden dañar carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos y, como consecuencia de ello, dañar seriamente las membranas celulares<sup>43</sup>.

Cada vez se presenta más evidencias que demuestran la participación de los radicales libres en la patogénesis de ciertas enfermedades, como cáncer, artritis reumatoide, arteriosclerosis, diabetes mellitus, catarata senil, enfermedad de Alzheimer, Kwashiorkor y procesos como el de la inflamación y el envejecimiento<sup>21</sup>

El organismo dispone de sistemas de defensa antioxidante que actúan impidiendo la formación de radicales libres, bloqueando su propagación o interaccionando directamente con ellos. Integran este sistema el superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, ácido úrico, proteínas, glucosa, glutatión, grupos sulfidrilos (-SH), entre otros. También, es posible que se ingiera con la dieta sustancias naturales o de origen sintético con capacidad antioxidante, como flavonoides, polifenoles,  $\beta$ -caroteno, vitamina E, vitamina C, dimetilsulfóxido y otros más<sup>43</sup>.

Todos estos aspectos nos conducen a suponer que los alimentos que posean poder antioxidante, como el perejil (*Petroselinum sativum*), debido a su composición química, puedan ser utilizados para prevenir la hepatotoxicidad generada por algunas drogas, como el paracetamol, en cuyo mecanismo patogénico intervienen precisamente por un lado la producción de radicales libres y por otro la alteración del sistema antioxidante a nivel hepático<sup>22</sup>.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho - Perú, durante los meses de abril a septiembre del 2018.

#### 3.2. Definición de la población y muestra

##### a. Población

Constituida por las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca" recolectadas en el distrito de Quinua, región Ayacucho.

##### b. Muestra

Quinientos gramos de hojas secas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". El sistema de muestreo fue por conveniencia. Las muestras fueron transportadas en bolsas de papel a los laboratorios de Farmacia, desecadas a la sombra sobre papel periódico, a temperatura ambiente.

Una parte de la planta (parte aérea), sirvió para su identificación y clasificación, realizado a cargo de la Bióloga Laura Aucasime Medina de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Una vez secas, las muestras de hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca", fueron pulverizadas utilizando un molino manual y maceradas con alcohol de 80° en frascos de color ámbar por un periodo de 14 días.

##### c. Animales de experimentación

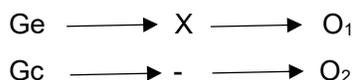
Se trabajó con 40 "ratas" de la misma edad, sexo (macho), entre  $180 \pm 10$  g, procedente de la Universidad Nacional Agraria La Molina, los mismos que fueron previamente acondicionados con alimentación balanceada y agua a libertad en el bioterio del área de Farmacología de los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

### 3.3. Tipo de investigación

Básico - experimental.<sup>44</sup> Porque se emplean animales de experimentación y se describe todos los fenómenos ocurridos durante el tratamiento. Así mismo, analiza e interpreta ciertos fenómenos que presenta el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca".

#### 3.3.1. Diseño de investigación

Se utilizó el diseño con posprueba únicamente y grupo control, este diseño se diagrama de la siguiente manera: <sup>44</sup>



Donde:

Ge : grupos experimentales.

Gc : grupo control

X : tratamiento.

O : observación.

- : blanco (suero fisiológico 0,9%)

### 3.4. Procedimiento metodológico para la recolección de datos

#### 3.4.1. Preparación del extracto hidroalcohólico

Se siguió el procedimiento descrito por Lock de Ugaz<sup>45</sup>.

Se procedió a desecar las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca" a temperatura ambiente, protegidas de la luz, durante 2 semanas para posterior pulverización y macerado. Para el proceso de maceración se agregó etanol de 80° y se dejó macerar por 14 días con constante agitación, protegido de la luz en un frasco de color ámbar de boca ancha. El producto que se obtuvo se filtró haciendo uso del papel filtro, tras separar el residuo vegetal y el líquido extractivo, se procede a la concentración del mismo en el equipo de rotavapor a 45 °C. Es así que se obtiene un concentrado líquido de color verde oscuro el que se envaso en un plato de losa hondo; el extracto obtenido perfectamente seco es guardado en el congelador hasta su posterior fraccionamiento.

#### 3.4.2. Ensayos fitoquímicos

Los metabolitos secundarios presentes en el extracto fueron identificados siguiendo los procedimientos descritos por Miranda y Cuéllar<sup>46</sup>.

- **Ensayo del cloruro férrico**, permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Cuando el extracto de la planta se diluyo con alcohol, el ensayo determinó tanto

fenoles como taninos. A una alícuota del extracto hidroalcohólico se le añadieron tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un ensayo positivo da la siguiente información, color rojo – vino compuestos fenólicos en general; desarrollo de una coloración verde intensa taninos del tipo pirocatecolicos; desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalactonicos.

- **Ensayo de Shinoda**, permite reconocer la presencia de flavonoides en extractos alcohólicos y acuosos de un vegetal. Cuando la alícuota del extracto no se encontró en alcohol, se diluyo con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pequeño fragmento de magnesio metálico. Después de la reacción se esperó 5 min, se añadió 1 mL de alcohol amílico, se mezclaron las fases y se dejó reposar hasta que se separaron. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja o rojo intenso en todos los casos.
- **Ensayo de Baljet**, permite reconocer en un extracto alcohólico (lactonas) la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. en estas condiciones se adiciono 1 ml del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.
- **Ensayo de Fehling**, permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, cuando la alícuota del extracto no se encuentra en agua, se debe evaporar el solvente en baño de agua y el residuo disolverse en 1 a 2 mL de agua. Se adicionarán 2 mL del reactivo y se calentara en baño de agua 5 a 10 min. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea o aparece precipitado de color rojo.
- **Ensayo de resinas**, para detectar este tipo de compuesto, se añadió a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado indica un ensayo positivo.
- **Ensayo de espuma** permite reconocer en un extracto acuoso y alcohólico la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. Se diluyo con cinco veces su volumen en agua y se agito, dicha mezcla, fuertemente durante cinco minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persiste por as de dos minutos.

### 3.4.3. Evaluación del efecto hepatoprotector

Para la inducción de daño hepático se empleó una sobredosis de paracetamol.

El paracetamol (N-acetil-p-aminofenol, paracetamol, AAP) es un medicamento de venta libre clínicamente importante comúnmente utilizado por sus propiedades analgésicas y antipiréticas. En las dosis terapéuticas, AAP se considera un medicamento seguro. Sin embargo, puede causar necrosis hepática, nefrotoxicidad, lesiones hepáticas adicionales e incluso la muerte en humanos y animales de experimentación cuando se toman en una sobredosis<sup>47</sup>.

Se seguirá la técnica descrita por Bermúdez *et al* que se basa en la administración de una sobredosis de 600 mg/kg de paracetamol como agente hepatotóxico para generar experimentalmente un modelo de hepatotoxicidad aguda<sup>48</sup>.

- Se utilizó ratas albinas machos cepa Holtzmann con peso promedio de 180 ± 10 g procedentes procedente de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Lima, Perú) y se mantendrán en el Bioterio, con adaptación previa de 7 días, con agua y alimento *ad libitum*, ciclo luz - oscuridad de 12 horas y temperatura de 22 a 26 °C.
- Se trituraron tabletas de paracetamol 500 mg y se disolvieron en solución salina (NaCl) al 0,9%, garantizando una dosis de 600 mg/kg de peso corporal. Las dosis empleadas fueron seleccionadas a partir de estudios previos diseñados para obtener la dosis efectiva del modelo experimental de hepatotoxicidad aguda.
- Se conformaron cinco grupos experimentales de ocho animales cada uno a los cuales se les asignó el siguiente tratamiento:

**Grupo I, II y III:** 200 mg/kg, 400 mg/kg y 600 mg/kg por 3 días consecutivos previos al daño provocado con el paracetamol. Al tercer día, pasados 30 minutos de la administración del extracto, se les administra paracetamol/NaCl 0,9% a una dosis de 600 mg/kg como agente hepatotóxico (para provocar el daño).

**Grupo IV:** Este grupo se emplea como control de daño hepático. Se utilizó una sobredosis de 600 mg/kg de paracetamol tabletas como agente hepatotóxico. Los animales recibieron NaCl al 0,9%, 3 días consecutivos previos a la inducción del daño hepático y en el día tercero pasados 30 minutos de la administración del NaCl se les administró paracetamol/NaCl 0,9%.

**Grupo V:** Se utilizó como grupo control administrándole solo NaCl 0,9%.

- Se realizaron inspecciones clínicas cada 2 horas con el fin de detectar signos clínicos de toxicidad. Todos los animales fueron sometidos a toma de muestra de sangre de 1 mL en viales químicamente limpios que contenían heparina sódica 72 horas antes y 24 horas después de la administración del agente tóxico, lo cual se realizó bajo los efectos de la anestesia con éter.

La sangre anticoagulada se centrifugó a 2500 rpm durante 5 minutos y se obtiene el plasma para la determinación de los niveles de transaminasa glutámico oxalacética (GOT) y tansaminasa glutámico pirúvica (GPT), según procedimiento descrito por el fabricante (Anexo 4)

**Tabla 3:** Diseño experimental del efecto hepatoprotector en ratas, Ayacucho 2018.

Grupos	Tratamiento extracto hidroalcohólico			NaCl	Paracetamol
	200 mg/kg	400 mg/kg	600 mg/kg	0,9%	600 mg/kg
Grupo 1	x				x
Grupo 2		x			x
Grupo 3			x		x
Grupo 4 (Paracetamol)				x	x
Grupo 5 (Blanco)				x	

### 3.4.4. Determinación de la actividad Antioxidante

#### Método de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

El DPPH es uno de los pocos radicales orgánicos estable, presenta una fuerte coloración violeta, es comercialmente disponible y no tiene que ser generado *in situ* como el ABTS. El ensayo se fundamenta en la medición de la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical DPPH, esta medición puede hacerse espectrofotométricamente siguiendo el decaimiento de la absorbancia a 515 nm<sup>49</sup>. DPPH, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante.

#### a. Procedimiento

Se procedió a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en etanol 96° a una concentración de 40 mg/mL, se mantendrá en el refrigerador y protegido de la luz, se realizaron diluciones de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1 µg/mL. La curva de calibración se construirá a partir de los valores de absorbancia obtenidos a 515

nm de todas las soluciones (1 a 40 µg/mL), medidas en una cubeta de vidrio con el camino óptico de 1cm y teniendo como “blanco” el etanol.<sup>49</sup>

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca” y el control positivo (trolox) fueron diluidos en etanol 96°, y llevados a concentraciones de 250, 200, 150, 100, 50 y 25 mg/mL. Las medidas de absorbancia de las mezclas de reacción (0,3 mL de solución de muestra y 2,7 mL de la solución madre de DPPH a la concentración de 40 µg/mL) se realizarán a 515 nm a 1, 5 y 10 minutos, cada 10 minutos hasta 1 hora. Se utilizará una mezcla de etanol (2,7 mL) y 0,3 del extracto como blanco.<sup>49</sup>

### **b. Cálculo del porcentaje de actividad antioxidante**

Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante (porcentaje de inhibición), de acuerdo con la ecuación: <sup>49</sup>

$$\%DPPH_{REM} = \left[ \frac{DPPH_{T=t}}{DPPH_{T=0}} \right] \times 100$$

**Ecuación 1.** Determinación del DPPH remanente

**Donde:**

DPPH<sub>T=t</sub> Concentración de DPPH en el medio después de la reacción con el extracto.

DPPH<sub>T=0</sub> Concentración inicial de DPPH

Los valores de absorbancia a todas las concentraciones ensayadas se convertirán en porcentaje de actividad antioxidante (%AA), que será determinada por la ecuación:<sup>49</sup>

$$\%AA = \frac{\{[Abs_{control} - (Abs_{muestra} - Abs_{blanco})] \times 100\}}{Abs_{control}}$$

**Ecuación 2.** Determinación del porcentaje de Actividad Antioxidante

**Donde:**

Abs<sub>control</sub>: absorbancia inicial de la solución etanólica de DPPH,

Abs<sub>muestra</sub>: absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra.

### **3.5. Análisis de datos**

Los resultados de transaminasa glutámica oxalacética (GOT) y tansaminasa glutámica pirúvica (GPT) se expresarán como la media y desviación estándar, con los valores de las absorbancias obtenidas se determinará el porcentaje de captación de radicales libres (DPPH). Las mismas que serán contrastadas con un análisis de varianza (ANOVA) en el software SPSS v24.

#### **IV. RESULTADOS**



**Tabla 4.** Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca” Ayacucho 2018.

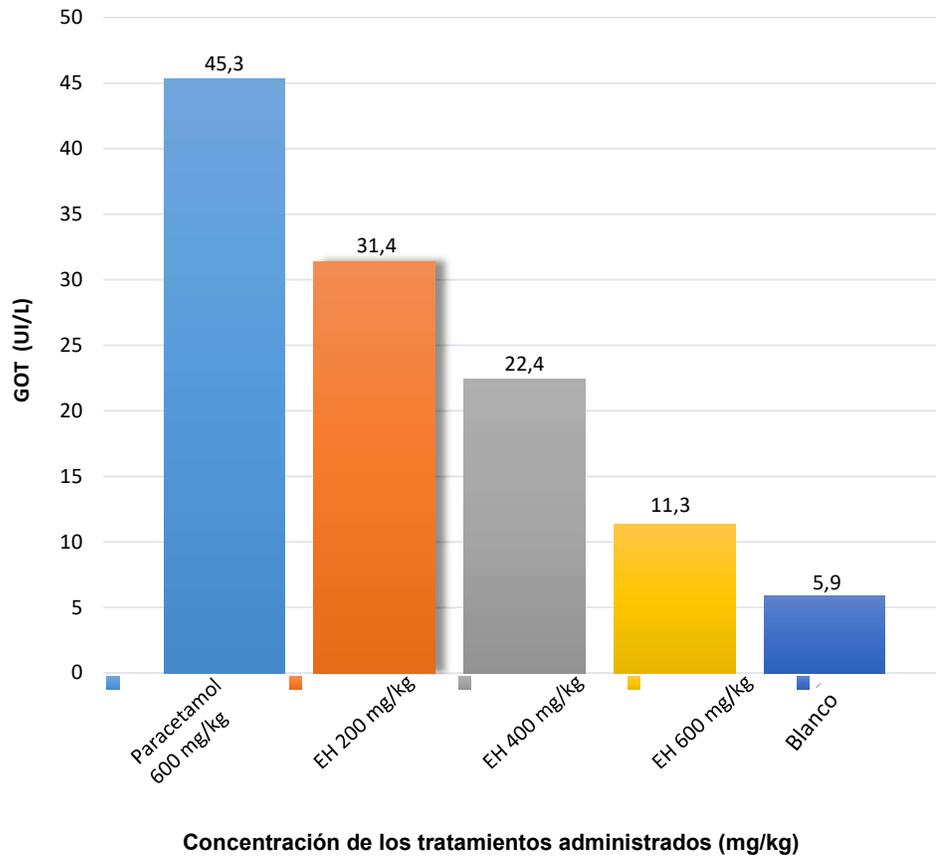
Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Fenoles y/o taninos	R. Cloruro férrico	+++	Color azul (taninos del tipo pirogalotánicos)
Flavonoides	R. Shinoda	++	Coloración anaranjada.
Lactonas y cumarinas	R. Baljet	++	Se observó la formación de precipitado de color rojo
Azúcares reductores	R. Fehling	+++	Aparición de color rojo
	R. Benedict	+++	Formación de precipitado de color anaranjado.
Resinas	R. Resinas	++	Aparición de precipitado
Saponinas	R. Saponinas	++	Espuma persiste por más de 2 minutos.

LEYENDA

Abundante/intenso : (+++)

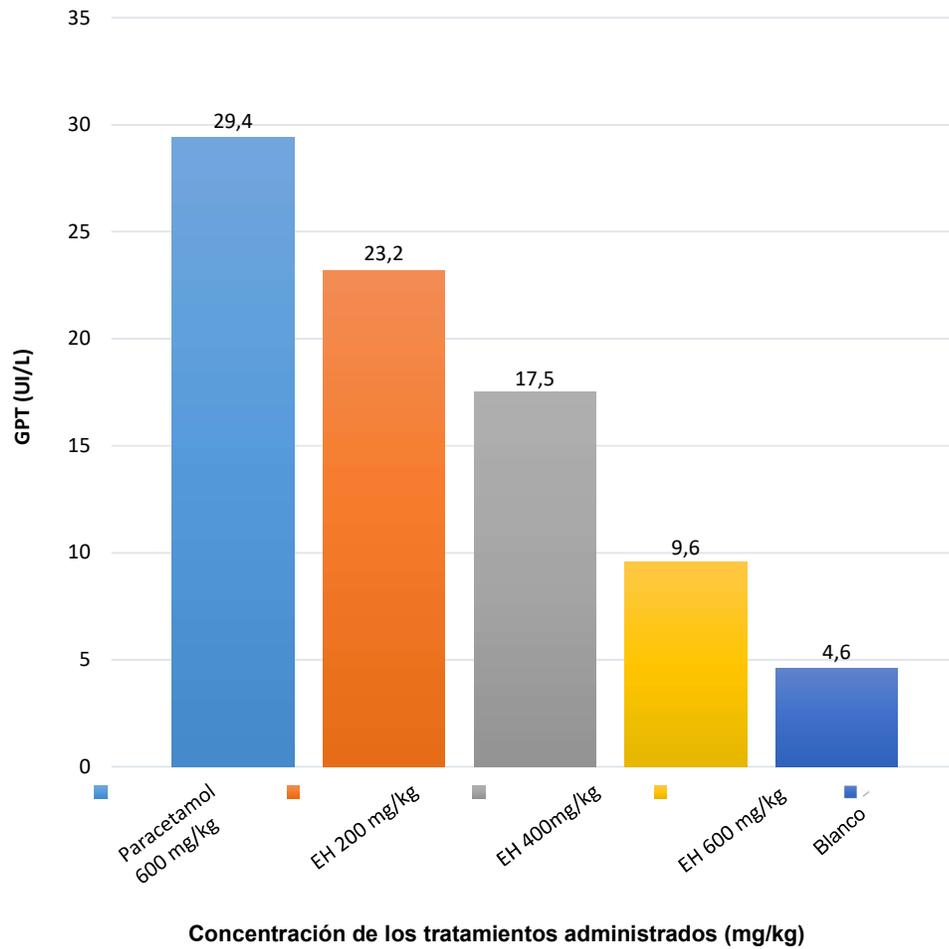
Moderado : (++)

Escaso/leve : (+)



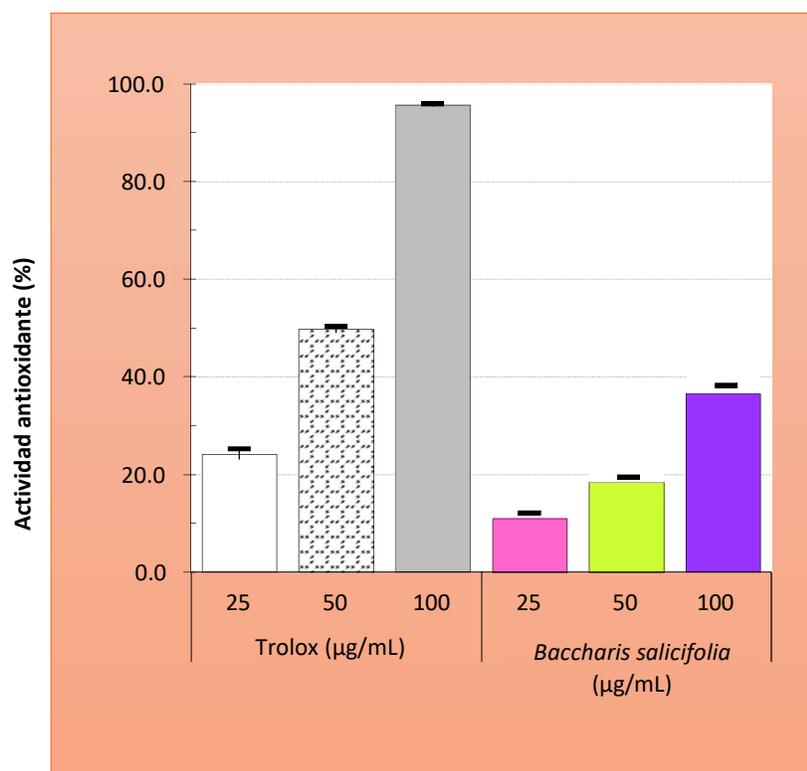
ANOVA  $p = 1,28 \times 10^{-15}$

**FIGURA 3:** Niveles de transaminasa glutámica oxalacética (GOT) al administrar el extracto hidroalcohólico (EH) de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". en ratas, Ayacucho 2018.



ANOVA  $p = 1,08 \times 10^{-15}$

**FIGURA 4:** Niveles de tansaminasa glutámica pirúvica (GPT) al administrar el extracto hidroalcohólico (EH) de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". en ratas, Ayacucho 2018.



Tratamiento	Concentración (µg/mL)		
	25	50	100
Trolox	26,14 ± 0,73	53,39± 0,66	94,84 ± 0,43
<i>B.salicifolia</i>	11,03 ± 0,21	19,52± 0,85	36,00± 0,68

ANOVA  $p=1,5 \times 10^{-24}$

**Figura 5:** Porcentaje de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto hidroalcohólico de las Hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.

## V. DISCUSIÓN

El importante y poco difundido papel que desarrollan los órganos vegetales como agentes terapéuticos en la medicina alternativa o auxiliar ha ido cobrando relevancia en los últimos años por la comunidad científica. El objetivo primordial es encontrar un tratamiento alterno para patologías actuales que no presenten los efectos adversos que son inherentes a las medicinas sintéticas. Es con este propósito la obtención de mayores antecedentes en la investigación científica de las propiedades terapéuticas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca".

La cirrosis hepática constituye uno de los principales problemas de salud en el mundo, debido a su alta morbilidad y mortalidad. En el Perú, la cirrosis hepática con una tasa de mortalidad de 9,48 por 100000 habitantes ocupa el 5° lugar, en orden de magnitud entre las defunciones generales, el segundo lugar entre las enfermedades digestivas y hepatobiliares y es la segunda causa de muerte entre las defunciones registradas para el grupo etáreo de 20 a 64 años<sup>2</sup>.

El género *Baccharis* es incluido para el tratamiento de heridas y úlceras, fiebre, enfermedades gastrointestinales, como espasmolíticos, diuréticos y analgésicos, y en el tratamiento de la diabetes y las infecciones bacterianas o fúngicas. La infusión de las hojas y ramas de *Baccharis salicifolia* R.& P. se aplica externamente como tratamiento antiinflamatorio. La decocción de las hojas y tallos es utilizada en la higiene femenina. También como diaforético, para el dolor de cabeza, para la diarrea, para la disentería, antirreumático y antisifilítico<sup>4</sup>.

A pesar del importante papel que los productos naturales, particularmente *Baccharis salicifolia*, han tenido en la medicina tradicional peruana, sigue siendo escasa la investigación científica de sus propiedades farmacológicas, entre otros campos, en el de la hepatotoxicidad, por ello la motivación del presente trabajo.

La toxicidad hepática producida por la administración de paracetamol ha sido descrita por diversos autores. Existen estudios que muestran que el paracetamol se metaboliza a nivel hepático por varias vías, conduciendo una de ellas a la

reacción de conjugación con el ácido glucurónico, mientras que la segunda vía se conjuga con el sulfato, reacciones que tornan inocuo al paracetamol. En cambio, existe otra reacción que lo conduce a la formación de N-acetil imidoquinona, compuesto que tiene la propiedad de realizar un ataque nucleofílico a diversos componentes celulares. Los compuestos dadores de grupos sulfidriilo, como el glutatión, ejercen un eficiente efecto protector hepático, por cuyo motivo la administración de N-acetil cisteína por vía endovenosa permite evitar el efecto nocivo que ejercen los radicales libres generados por los metabolitos del paracetamol<sup>28</sup>.

El paracetamol es un medicamento que, administrado a elevadas dosis, causa daño hepático. Este proceso se realiza por generación de radicales libres. En tal sentido, la administración de sustancias con propiedades antioxidantes podría evitar o disminuir el efecto tóxico de la mencionada droga. El daño a nivel hepático puede ser evaluado de diversas formas; una de ellas lo constituye la medición de la actividad sérica de enzimas como GOT, GPT o GGT, cuya elevación en el plasma pondría en evidencia el daño celular que causa el paracetamol<sup>32</sup>.

En la tabla 4 con el fin de ofrecer un precedente científico que tuvo como objetivo evaluar la propiedad antioxidante y hepatoprotectora en la *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca", en cuanto al tamizaje fitoquímico se observa los siguientes resultados; presencia de flavonoides, fenoles y taninos, azúcares reductores, lactonas, cumarinas y encontrando de forma muy leve la presencia de saponinas y escasa la presencia de alcaloides. Confirman la presencia de estos metabolitos secundarios.

Aguilar *et al*<sup>21</sup> quien reporta la presencia de taninos y/o fenoles, flavonoides, esteroides y/o triterpenos, además de sustancias reductoras, lactonas y cumarinas y afirman que químicamente el género *Baccharis salicifolia* contiene los mismos compuestos, pero seguramente difieren en la naturaleza química del mismo.

Valdez R<sup>20</sup>, determinó el contenido de fenoles y flavonoides totales en *Oenothera rosea* ait "yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R. & P." chilca" y *Piper elongatum* vahl "matico". Resultando que *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca", presento 12,62%, *Oenothera rosea* Ait. "Yawar suqu" 6,42% y *Piper elongatum* vahl. "Matico" 3,88% de fenoles totales. El contenido de flavonoides fue *Oenothera rosea* Ait. "Yawar suqu" 8,32%, *Piper elongatum* Vahl "matico" 6,21% y *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca" 9,96%. Concluyendo que *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca" presentó cantidades superiores de fenoles y flavonoides totales frente a *Oenothera rosea*

Ait “yawar suqu”, y *Piper elongatum* Vahl “matico”.

Para la evaluación de la actividad hepatoprotectora de *Baccharis salicifolia* se empleó un modelo experimental de hepatotoxicidad en ratas tratados con paracetamol donde se miden los niveles séricos enzimáticos de GOT y GPT. Debido a que las transaminasas GOT y GPT son enzimas que se encuentran en los hepatocitos, siendo utilizados como marcadores de lesión hepática<sup>46</sup>.

Con los datos obtenidos en nuestro trabajo de investigación se realizó una serie de operaciones, obteniendo el promedio de todos los resultados y se construyeron tablas para las cuales se obtuvo en la prueba de ANOVA, para un diseño completamente aleatorizado, trabajándose a un 95% de nivel de confianza con lo que se obtuvieron los resultados, tales como:

En el análisis de varianza (ANOVA) del indicador GOT (U/l) (anexo 8) se observa que también existe diferencia significativa ( $p = 1,28 \times 10^{-15}$ ) al menos en un grupo de entre el grupo control y los tratamientos, además, al aplicar el análisis de Duncan (anexo 9) los extractos al 200 mg/kg y 400 mg/kg resultan tener valores de transaminasa diferentes con respecto al extracto de 600 mg/kg que muestra tener menor valor de transaminasas. Efectivamente en la (figura 3) se verifica que los valores promedios de transaminasas en GOT difieren según el grupo de tratamiento, resaltando que en el grupo de extracto hidroalcohólico 600 mg/kg presenta niveles de transaminasas similares con el grupo blanco con (11.3U/l) y (5,9U/l) respectivamente.

En el análisis de varianza (ANOVA) del indicador GPT (U/l) (anexo 10) se observa que también existe diferencia significativa ( $p = 1,08 \times 10^{-15}$ ) al menos en un grupo de entre el grupo control y los tratamientos, además, al aplicar el análisis de Duncan (anexo 11) los extractos al 200 mg/kg y 400 mg/kg resultan tener valores de transaminasa diferentes con respecto al extracto de 600 mg/kg que muestra tener menor valor de transaminasas. Efectivamente en la (figura 4) se verifica que los valores promedios de transaminasas en GPT difieren según el grupo de tratamiento, resaltando que en el grupo de extracto hidroalcohólico 600 mg/kg presenta niveles de transaminasas similares con el grupo blanco con (9,6 U/l) y (4,6 U/l) respectivamente.

En la (figura 3), se presentan los valores promedios de GOT para cada grupo de experimentación al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia*. El grupo que recibe paracetamol a dosis de 600 mg/kg reporta 45,3 U/l observándose un incremento en comparación con los valores del

grupo control con un promedio de 5,9 U/l al analizar mediante la prueba de Duncan de comparación de medias (anexo 9) se observa que existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) el cual coincide con lo reportado en la literatura especializada respecto al daño hepatocelular que produce la sobredosis de paracetamol.

Analizando los niveles de GOT de los grupos tratados con el extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia* a dosis de 600 mg/kg 2 horas después de administrado el paracetamol se aprecia diferencia significativa respecto al grupo control paracetamol ( $p < 0,05$ ). la dosis de 600 mg/kg de extracto reporta valores de 11,3 U/l, la dosis de 200 mg/kg reporto 22,4 U/l y 400 mg/kg reporto 31,4 U/l.

En la (figura 4), Analizando los niveles de GPT tratados con el extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia* a dosis de 600 mg/kg 2 horas después de administrado el paracetamol se aprecia diferencia significativa respecto al grupo control paracetamol ( $p < 0.05$ ). la dosis de 600 mg/kg de extracto reporta valores de 9,6 U/l, la dosis de 200 mg/kg reporto 17,5 U/l y 400 mg/kg reporto 23,2 U/l.

Evaluando los valores promedios de transaminasa de GOT y GPT podemos decir por qué existe diferencia entre estos valores ya que de las transaminasas evaluadas la GOT es menos específica ya que se produce también en el corazón, musculo esquelético, riñón y cerebro y tienen una vida más corta, por tanto sus niveles se normalizan rápidamente, en cambio la GPT es más específica ya que solamente se encuentra en el hígado y musculo esquelético, tiene una vida media de 50 horas por lo cual se puede considerar como un buen indicador de necrosis aguda, en este caso se demuestra que hay un porcentaje más elevado de transaminasa en GOT que en GPT según lo muestra la (figura 5)<sup>50</sup>.

Rabelo *et al*<sup>7</sup>, refiere que el extracto acuoso de *Baccharis trimera* mejora la hepatotoxicidad alcohólica, en un modelo de hepatotoxicidad inducida por etanol. Demostrando que el extracto acuoso no era citotóxico en ninguna concentración probada, a diferencia de los resultados obtenidos en nuestra muestra donde a la dosis de 200 mg/kg los niveles de transaminasas son superiores a los valores normales y del grupo tratados solo con paracetamol en GOT (31,4 U/l) y GPT (23,2 U/l), así mismo confirman que existen varias situaciones en las que existe una pérdida de correlación entre los niveles séricos de enzimas hepáticas y una lesión tisular, de modo que un aumento de las actividades séricas de los marcadores de enzimas hepáticas no se reflejan necesariamente en muerte de células hepáticas, y que el tratamiento previo con *Baccharis trimera* disminuyó significativamente las actividades de GOT y GPT, pero no con la misma significancia que en un extracto

hidroalcohólico.

Según Muñoz *et al*<sup>6</sup>, el efecto hepatoprotector de mezcla de siete plantas en cirrosis inducida con tetracloruro de carbono se debe a que dicha mezcla presenta compuestos polifenólicos por el mecanismo posible de la estabilización de la membrana plasmática, ya que se ha demostrado que los niveles altos de GOT Y GPT se correlacionan de forma directa con el número de células afectadas ante el daño hepático. También se sabe que los altos niveles de estas enzimas son indicativos de infiltración celular y pérdida de la integridad funcional de la membrana celular en el hígado cuando hay un daño hepático, en tal sentido, los compuestos polifenólicos encontrados en el tamizaje fitoquímico pueden sustentar dicho efecto; así mismo se menciona que la hepatotoxicidad causada por el tetracloruro de carbono no solo aumenta los niveles de GOT, GPT y fosfatasa alcalina sino que también se observó una disminución en la albumina y proteínas totales y degeneración histopatológica.

Otro mecanismo para determinar la actividad hepatoprotectora fue desarrollada por Whu y Yolanda<sup>15</sup>, comprobaron el efecto energético y hepatoprotector que puede producir el extracto acuoso de *Baccharis lanceolata* H.B.K. A nivel mitocondrial y en la cadena respiratoria. También las mitocondrias son productores de cierta cantidad de radicales libres que se producen en la cadena respiratoria por el transporte de electrones y probablemente los polifenoles presentes en el extracto permitan neutralizar dichos radicales. Los flavonoides son compuestos muy activos y tienen tendencia a ceder electrones y son secuestradores directos de especies reactivas de oxígeno por lo que actuaría como hepatoprotector, en ratas administrándoles el extracto vía oral 14 mg/kg Comparando el tiempo de tratamiento y la dosis los resultados obtenidos fueron GPT: Control 28,33 U/l, 1º mes 25,06 U/l, 2º mes 12,0 U/l y 3º mes 30,5 U/l ( $p < 0,001$ ). GOT: Control 35,83 U/l, 1º mes 25,61 U/l, 2º mes 12,50 U/l y 3º mes 37,16 U/l a diferencia de nuestros resultados se trabajó en un tiempo de tres días administrándose diferentes dosis de 200 mg/kg, 400 mg/kg y 600 mg/kg obteniendo mejores resultados a una concentración de 600 mg/kg de GOT 11.3 U/l y GPT 9,6 U/l resultados que fueron evaluados empleando el suero sanguíneo, Demostrando que la hepatoprotección es dependiente del tiempo.

según el trabajo de Troncoso y Guija<sup>16</sup> podemos decir, que de todo lo observado en el presente estudio de investigación, el perejil ejerce un efecto antioxidante y hepatoprotector efectivo a nivel hepático en ratas con intoxicación inducida por

paracetamol, evidenciado a través de transaminasas GOT y GPT arrojando los siguientes resultados Control (GOT  $56 \pm 21,3$ ) y (GPT  $23 \pm 4,9$ ); paracetamol (GOT  $66 \pm 23,6$ ) y (GPT  $24 \pm 3,1$ ); FHP (GOT  $61 \pm 20,4$ ) y (GPT  $25 \pm 7,6$ ); perejil (GOT  $45 \pm 19,4$ ) y (GPT  $21 \pm 5,3$ ) en comparación con nuestros resultados a una dosis de 600 mg/kg de GOT 11,3 U/l y GPT 9,6U/l; control GPT 29,4U/l y GOT 45,3 U/l; blanco GPT 4,6 U/l y GOT U/l encontrando cierta similitud en los resultados obtenidos con nuestra metodología de secuestro de radicales libres.

Entre los métodos más aplicados para la determinación de la capacidad antioxidante están el ABTS y DPPH ambos presentan buena estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química, enzimática o también electroquímica<sup>51</sup>.

La evaluación de la actividad antioxidante se realizó empleando el reactivo 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

La actividad antioxidante es un parámetro que mide el grado en el cual el compuesto antioxidante evita que su sustrato se oxide. Si el valor es cercano a 100, la actividad del compuesto evaluado es alta<sup>33,52</sup>.

Los flavonoides desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, sus propiedades antirradicales libres se dirigen fundamentalmente a los radicales hidróxido y superóxido, especies reactivas, de esta manera bloquean la acción dañina de dichas sustancias sobre las células<sup>53,54</sup>.

Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente estadísticas ( $p < 0,05$ ). (Anexo 14), y en la prueba de comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de DPPH se encontraron una diferencia significativa entre concentraciones trabajadas y comparadas con nuestra muestra patrón de trolox. (Anexo 13), en el cual, a la concentración de 100  $\mu\text{g/ml}$  tuvo mayor actividad<sup>55,56</sup>.

En la (figura 6), muestra el porcentaje de actividad antioxidante, actividad neutralizadora del radical libre del DPPH donde sometido este radical a un agente antioxidante pierde su coloración característica de violeta intenso (fenómeno generado por el secuestro del radical libre), se observa en dicho gráfico que *Baccharis salicifolia* a concentración de 100  $\mu\text{g/mL}$  presentó el mayor porcentaje de actividad antioxidante (36,0 %), de donde esta capacidad está en función de la concentración, es decir, a mayor concentración menor la producción de

radicales libres y por ende mayor porcentaje de inhibición de estos. Estos mismos resultados se obtuvo en el trabajo presentado por Sabira *et al*<sup>6</sup>, donde también señala que el porcentaje de inhibición de radicales libres va en función directa con la concentración del extracto.

En el trabajo de Palomino<sup>57</sup>, sobre la actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii Triana* “qihwncha”, obtuvieron resultados similares a los nuestros, dando como mayor porcentaje de actividad antioxidante a la concentración de 100 µg/mL un resultado de 49,74 % y una menor concentración de % de actividad antioxidante a la concentración de 25 µg/mL con un resultado de 14,35 % a diferencia de nuestros resultados que a la mayor concentración de 100 µg/mL se encontraron 36 % de actividad antioxidante y a una menor concentración de 25 µg/mL se encontró 11,03 % de actividad antioxidante . La variación de resultados puede ser a causa de muchos factores tales como el tipo de muestra que empleemos ya que nosotros trabajamos con las hojas, en comparación con el otro trabajo emplearon los frutos de la planta, como dicen sus resultados se encontraron una concentración de flavonoides y antocianinas en mayor concentración, responsables de la actividad antioxidante. Troncoso y Guija<sup>16</sup> señala que la capacidad de los polifenoles vegetales para actuar como antioxidante se debe a que pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadoras de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios tales como Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> y Zn<sup>2+</sup>, catalizar el transporte de electrones y depurar radicales libres, es así que se le asume responsable de la actividad antioxidante en los ensayos obtenidos.

Aguilar *et al*<sup>1</sup>, el objetivo fue estudiar tres especies de genero *Baccharis* utilizada como plantas medicinales en el departamento de Ayacucho. Las especies fueron identificadas como *B. salicifolia*; *B. genistelloides*; *B. glutinosa*. Se realizaron ensayos fitoquímicos, la actividad antiinflamatoria y actividad antioxidante. Se aislaron flavonoides del tipo flavona y flavonona de las hojas de las tres especies en estudio. *B. salicifolia* demostró tener mejor actividad antiinflamatoria ( $p < 0,05$ ) y antioxidante ( $p < 0,05$ ) que *B. genistelloides* y *B. glutinosa*; obteniendo % de inhibición de la capacidad antioxidante de *B. salicifolia* de 91,57 %; 91,35 %; 75,70% a las concentraciones (300 µg/ml; 150 µg/ml; 30 µg/ml). Se concluye que en un ensayo *in vitro* *B. salicifolia* presenta actividad antioxidante dependiente de concentración de muestra.

En la (figura 6), se presenta los resultados de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia* "chilca". El presente estudio fue evaluado según la metodología del reactivo 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) de acuerdo a lo realizado por Sousa *et al*<sup>49</sup>, para ello se tomaron diferentes concentraciones de 25, 50 y 100 µg/mL, donde dicha muestra presentó una actividad antioxidante de  $11,03 \pm 0,21$ ;  $19,52 \pm 0,85$  y  $36,0 \pm 0,68$  respectivamente, mientras que el Trolox, a las mismas concentraciones presento una actividad antioxidante de  $26,14 \pm 0,73$ ;  $53,39 \pm 0,66$  y  $94,84 \pm 0,43$  respectivamente, la mayor inhibición del extracto hidroalcohólico de *Baccharis sacilifolia* "chilca" se observó a 100 µg/ml con  $36,0 \pm 0,68$  %.

En el trabajo de Ungar *et al*<sup>55</sup>, señala que debido a que en el secado por aspersion interviene de forma directa el calor, el fenómeno más importante es la degradación térmica, la pérdida de la actividad antioxidante se debió a que en el secado por aspersion interviene de forma directa el calor, en la investigación realizada la perdida de la actividad antioxidante puede deberse a la degradación térmica de los fenoles y otros metabolitos antioxidantes, que son compuestos termolábiles. En la degradación térmica los compuestos químicos sufren cambios significativos en su estructura (pérdida de uno o más átomos de la estructura fundamental) debido a la acción de altas temperatura, resultando en una pérdida de las propiedades del compuesto lo cual nos pudo haber pasado lo mismo ya que se trabajó primero el efecto hepatoprotector teniendo el extracto en la estufa por varios días a una temperatura de  $45 \pm 5$  °C mientras terminaba se secar, lo cual pudo haber afectado en nuestros resultados de la actividad antioxidante obteniendo resultados poco bajos en comparación con el estándar, pero demostrando que si hay presencia antioxidante.

Troncoso y Guija <sup>16</sup>, determinaron el efecto antioxidante y hepatoprotector del perejil (*Petroselinum sativum*) en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol. concluyendo que la relación que existe entre el efecto hepatoprotector y antioxidante es que ambos actúan secuestrando los radicales libres que pueden formarse intracelularmente en los peroxisomas, en la cadena transportadora de electrones, durante la fagocitosis, la autooxidación o como consecuencia de la interacción de metales de transición.

## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca” presenta efecto hepatoprotector y antioxidante.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca” fueron los siguientes: fenoles y taninos, flavonoides, lactonas y cumarinas, azúcares reductores, resinas y saponinas.
3. Se obtuvieron los mejores valores promedio de transaminasas para el efecto hepatoprotector a una concentración de 600 mg/mL del extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia* “chilca” con GOT 11,3 U/l y GPT 9,6 U/l.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca” presenta actividad antioxidante, donde el mayor porcentaje es de un  $36,0 \pm 0,68$  a una concentración de 100 µg/mL.



## VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar y elucidar las estructuras de los flavonoides y antocianinas presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R.& P. "chilca".
2. Realizar un examen histopatológico para mostrar con mayor claridad los resultados obtenidos en el ensayo.
3. Determinar los niveles séricos de fosfatasa alcalina de ratas con daño hepático tras la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca".
4. Complementar el estudio *in vitro* de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca".
5. Es recomendable realizar estudios más profundos a través de otros métodos adicionales sobre el extracto más activo, teniendo en cuenta la estabilidad de las antocianinas.
6. Determinar el contenido de flavonoides, fenoles y antocianinas mediante la utilización del equipo de HPLC.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tejada F. Hepatotoxicidad por Fármacos. Rev Clínica Med Fam octubre de 2010 España [citado 18 de febrero de 2018]; 3(3):177-91. Disponible en: <https://bit.ly/2lx6N8Y>
2. Bustíos C, Dávalos M, Román R, Zumaeta E. Características Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es-Salud. Rev Gastroenterol Perú. julio de 27(3):238-45.
3. López M. La gestión de los costos sanitarios de no calidad en los tratamientos de la cirrosis hepática en el Instituto de Gastroenterología. Rev Cuba Contab Finanz; HABANA; 2005. [citado 20 marzo de 2018]; pág 21-32. Disponible en: <https://bit.ly/2lxOksO>
4. Ji F, Li J, Zhang Y. Natural products and drug discovery. EMBO Rep [citado 25 de febrero de 2018]; 2009 [Internet]. 20 de marzo de 2009; 10(3):194-200. Disponible en: <https://bit.ly/2lz62w9>
5. Pariona S. actividad hepatoprotectora de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalyx* Apl. Wayra muña en ratas albinas. [tesis para pregrado]. Ayacucho. Universidad nacional san cristobal de Huamanga 2010.
6. Muñoz R, Gabriela C, Soria C, Vega P, Isabel M, Cruz C, et al. Efecto hepatoprotector de una mezcla de siete plantas en cirrosis inducida con tetracloruro de carbono. Rev Cuba Plantas Med. marzo de 2017;22(1):0-0. [citado 22 de abril de 2018]; Disponible en: <https://bit.ly/2k35pdR>
7. Rabelo A, Araújo G, Lúcio K, Araújo M, Miranda PH de A, Silva B de M, et al. Aqueous extract of *Baccharis trimera* improves redox status and decreases the severity of alcoholic hepatotoxicity Brasil. Rev Bras Farmacogn [Internet]. diciembre de 2017;27(6):729-38. Disponible en: <https://bit.ly/2kuJpIR>
8. Sabira M, Athaydeb L, Rocha J; Antioxidant activities and phenolic profile of *Baccharis trimera* a commonly used medicinal plant from Brasil; South African; Journal of Botany [internet] septiembre 2017[citado 20 de julio de 2018];. Disponible en: <https://bit.ly/2lz6tGN>

9. Veiga S, De Mendonça S, Mendes B, Paulino N, Mimica J, Lagareiro A, Lira IS, López C, Negrão V, Marcucci ; Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC Brasil [internet] febrero 2017. [citado 22 de abril de 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2IXzSKN>
10. Pádua C, Rossini J, Victor J, Magalhães B, Lopes C, Chaves MM, *et al.* Protective Effect of *Baccharis trimera* Extract on Acute Hepatic Injury in a Model of Inflammation Induced by Acetaminophen Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), Brazil [Internet]. 2014 [citado 18 de abril del 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2IZmZjt>
11. Rezende P, Correa J, Aarestrup B, Aarestrup M, De Sousa OV, Da Silva A. Protective effects of *Baccharis dracunculifolia* leaves extract against carbon tetrachloride- and acetaminophen-induced hepatotoxicity in experimental animals. *Brasil Mol Basel Switz.* 2 de julio de 2014;19(7):9257-72.
12. Arellano L, Herrera R, Quispe S, Espinoza S, Veliz S, Orihuela V. Evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres colores de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú.* octubre de 2015;81(4):319-27.
13. Ganoza Y, Cotilla Sánchez N, Velásquez Arévalo S, Polo Vidal M. Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de extractos de especies vegetales de Cachicadán, La Libertad - Perú. 2015 [Internet] [citado 18 de junio de 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2k06e73>
14. Whu W, Yolanda D. Actividad energética y hepatoprotectora de las hojas de *Baccharis lanceolata* (Chilca). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú [Internet]. 2014; [citado 25 de febrero de 2018]; Disponible en: <https://bit.ly/2kvh70P>
15. Díaz M, Conde J, Félix P, Ramírez S, Vicuña R. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de una crema a partir del extracto purificado de *Baccharis Tricuneata* Pers. "taya". Asociación Científica de Investigación Farmacéutica - Facultad de Farmacia y Bioquímica- Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica. Perú [Internet]. 2014[citado 18 de marzo de 2019];. Disponible en: <https://bit.ly/2jVMKQW>

16. Troncoso L, Guija E, Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol, Facultad de Medicina, UNMSM. 2008, [Internet] publicado en revista scielo, v:68 Lima, Perú. [citado 22 de abril del 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2k0yXZs>.
17. Huayanay FJ Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de "*Tanacetum parthenium*" L. Sch. Bip. "santa María". Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Peru, 2014.
18. Palomino KL. Estudios del efecto sobre la hiperplasia prostática benigna del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "Kimsa cuchu"[ tesis]. Universidad Nacional de san Cristóbal de Huamanga Ayacucho - Perú; 2014.
19. Tenorio JM. Efecto antioxidante y citoprotector del tocosh "*Solanum tuberosum*" papa. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga - Ayacucho - Perú 2014.
20. Valdez RP. Estudios de fenoles totales y flavonoides totales en *Oenothera rosea* Ait "Yawar suqu", *Baccharis salicifolia* R&P "chilca" y *Piper elongatum* vahl "matico" [tesis]. Universidad Nacional San cristobal de Huamanga; Ayacucho-Perú:2014.
21. Aguilar E, Anaya B, Tinco A. Etnobotánica, fitoquímica y farmacología de especies del género *baccharis* (asteraceas) utilizadas como plantas medicinales en el departamento de Ayacucho - Perú; 2006.
22. Freire S, Urtubey E, Giuliano DA. Epidermal characters of *Baccharis* (asteraceae) species used in traditional medicine. Bogotá Rev clínica Med Fam. [Internet]. Caldasia. junio de 2009 29(1):23-38. [citado 20 de febrero de 2019]; Disponible en: <https://bit.ly/2k3gmft>
23. Budel JM, Duarte MR, Santos C a. M, Farago PV, Matzenbacher NI. Research progress on the genus *Baccharis*, Asteraceae: I - Botanical studies. Rev Bras Farmacogn. [Internet]. Brasil septiembre de 2008;15(3):268-71. [citado 25 de junio de 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2k3gmft>

24. Cornejo V. Las plantas y sus utilidades. Ayacucho: Universidad de San Cristóbal de Huamanga. (Área de Botánica). Ayacucho – Perú.
25. Herrera B, Alvarado A, Salazar A, Ramos E, Jurado B. Cribado fitoquímico del *Baccharis latifolia* (R&P.) Pers. (chilca). Rev Plantas Med. [Internet]. marzo de 2017;22(1):1-7 La Habana Cuba [citado 25 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://bit.ly/2m0nPFT>
26. Verdi LG, Brighente IMC, Pizzolatti MG. The *Baccharis* genus (Asteraceae): chemical, economic and biological aspects. Sao paulo – Brasil Quím Nova. febrero de 2015;28 :85-94. Disponible en: <https://bit.ly/2k09xuZ>
27. Abad M, Bermejo P, *Baccharis* (Compositae): a review update. Arkivoc Madrid – España [Internet]. 2007;7(7):76-96. [citado 25 de julio de 2019]; Disponible en: <https://bit.ly/2m1uhTV>
28. Salazar W, Cárdenas J, Núñez M, Fernández I, Villegas L, Pacheco L, et al. Estudio fitoquímico y de la actividad antihelmíntica de los extractos de *Euphorbia huanchahana* y *Baccharis salicifolia*. [Internet]. Rev Soc Quím Perú. julio de 2007;73(3):150-7. [citado 22 de junio del 2018]; Disponible en: <https://bit.ly/2kuWSQV>.
29. Gonzales E, Villca T, Loza R. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de ocho especies del género *Baccharis*: *B. articulata*, *B. dracunculifolia*, *B. salicifolia*, *B. ulcina*, *B. latifolia*, *B. pentlandii*, *B. obtusifolia*, *B. subalata*. La paz – Bolivia [Internet]. Rev Boliv Quím;24(1):41-4. [citado 19 de febrero de 2019]; Disponible en: <https://bit.ly/2k5eqDe>
30. Jakupovic J, Schuster A, Ganzer U, Bohlmann F, Boldt P. Sesqui and diterpenes from *Baccharis* species. Phytochemistry [Internet]. Brasil 1 de enero de 2011;29(7):2217-22. [citado 18 de julio del 2019]. Disponible en: <https://bit.ly/2IEEMvW>.
31. García M, Andrade RJ, Lucena MI, González R, Camargo R, Fernández E, et al. Hepatotoxicidad secundaria a fármacos de uso común. Gastroenterol Hepatol España [Internet]. 1 de octubre de 2015;28(8):461-72. [citado 22 de febrero de 2019]; Disponible en: <https://bit.ly/2k3iqnJ>.

32. Angosto M, Donato M, Moliner L, Atienza J. Recientes avances en la hepatotoxicidad de fármacos. An Real Academia Nacional de Farmacia. España 26 de junio de 2018(2) [Internet]. [citado 22 de febrero de 2019]; Disponible en: <https://bit.ly/2kuXQg1>
33. Zamora J. Antioxidantes micronutrientes en lucha por la salud. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, Sistema de Información Científica. Revista Chilena de Nutrición, ISSN. Programa de Maestría en Nutrición Humana Universidad de Costa Rica. marzo 2007; 34(1).
34. López A, Fernando C, Lazarova Z, Bañuelos R, Hugo S. Antioxidantes, Un paradigma en el tratamiento de enfermedades. Revista Anacem. [revista en internet] 2012. [acceso 15 de febrero del 2018]; 6(1):48-53). [citado 22 de marzo de 2019]; Disponible en: <https://bit.ly/2IEY44n>
35. Hernández D. Evolución y Radicales libres. México Rev. Med. Inst Mex Seguro Soc. [revista en internet] 2007 [acceso 15 de febrero del 2018]; 45(5):477-484. Disponible en: <https://bit.ly/2m0qINL>
36. Cross C, Halliwell B, Borish E, Pryor W, Ames B, Saul R, et al. Oxygen radicals and human disease. Inglaterra [Internet]. Ann Intern Med. octubre de 2008;107(4):526-45. [citado 25 de junio de 2018]; Disponible en: <https://bit.ly/2k50nNY>
37. Montero M. Los Radicales Libres y las defensas antioxidantes. Revisión. Copyright© [Internet]. Argentina 2006 [citado 8 de marzo de 2019];57. [citado 22 de junio del 2019]; Disponible en: <https://bit.ly/2IAksMn>.
38. Valdecantos M, Pérez P, Alfredo J. Obesidad y estrés oxidante: papel de la suplementación con antioxidantes de la dieta. Departamento de Ciencias de la Alimentación Fisiología y Toxicología Universidad de Navarra. España Revista de Investigación Clínica. 2009. [acceso 15 de febrero del 2018]; 61 (2):127-139. [citado 22 de abril de 2018]; Disponible en: <https://bit.ly/2kvBIIR>
39. Huamaní C. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de tres variedades de *Allium sativum* L. "ajo". [Ayacucho]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú 2009.

40. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming, W. The Determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals – Science España Direct. 555-559 [Internet]. 2009 [citado 10 de marzo de 2019];64. [citado 23 de agosto de 2019]; Disponible en: <https://bit.ly/2kj2Wfy>
41. Mundaca C. Optimización de parámetros de extracción de antocianinas del maíz morado (*zea mays* L.) por el método de superficie de respuesta y verificación experimental. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Lima-Perú 2019.
42. Martínez J. “Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus*” | Ingeniería en Alimentos UTM [Internet]. México: Universidad Tecnológica De La Mixteca; 2007 [citado 8 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2ID6w48>
43. Instituto de Nutrición y Tecnología de los alimentos. Antioxidantes Portal Antioxidantes Primer Portal de Antioxidantes, Alimentos y Salud en el Mundo de Habla Hispana [Internet]. [citado 10 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://bit.ly/2jZvcn1>
44. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 5ta edición. Perú [Internet]. Editorial Mc Graw Hill. 2010. Disponible en: <https://bit.ly/2IEHoKg>
45. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994 [Internet]. [citado 18 de febrero de 2018]; Disponible en: <https://bit.ly/2k0D1sG>
46. Miranda CA. Manual de Prácticas de Laboratorio, Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos; 2000.
47. Olaleye T, Adegboye O, Akindahunsi A. Alchornea cordifolia extract protects wistar albino rats against acetaminophen-induced liver damage. Afr J Biotechnol Canadá [Internet]. 1 de enero de 2006 [citado 18 de febrero de 2018];5(24). Disponible en: <https://bit.ly/2kgrhTb>
48. Bermúdez D, Escobar R, Boffill M, Betancourt E, Igualada I, Alonso B. Evaluación del potencial hepatoprotector de la *Mentha piperita* L previo a la inducción de hepatotoxicidad con acetaminofén. Chile Bol Latinoam Caribe

- Plantas Med Aromáticas [Internet]. 2014 [citado 18 de febrero de 2018];13(6). Disponible en: <https://bit.ly/2lZwGhU>
49. Sousa C. de M, Silva HR e, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, Costa CLS da, Araújo DS, et al. Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. *Brasil Quím Nova*. Abril de 2007;30(2):351-5. Disponible en: <https://bit.ly/2k3KUO8>
  50. Castañeda C, Ramos L, Ibáñez V Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales. Perú [internet] 2008 [citado 20 de marzo 2018] Disponible en: <https://bit.ly/2m1xfb1>
  51. Restrepo J, Buritica J, Silva A: Enfoque del paciente icterico. Colombia *Archivos de Medicina* [ revista en internet] 2009 [citado el 25 de marzo del 2019] 12,15,24. Disponible en: <https://bit.ly/2kj4gz2>
  52. Arnao M. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case Brasil. *Trends in Food Science & Technology*. noviembre de 2000;11(11):419-21. Disponible en: <https://bit.ly/2k0e6FD>
  53. Yupanqui M, Sánchez N. Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de extractos de especies vegetales de Cachicadán, La Libertad-Perú. *Rev Perspect* [Internet]. 5 de enero de 2016 [citado 23 de noviembre de 2018];16(1-2). Disponible en: <https://bit.ly/2lysDZC>
  54. Villanueva J, Condezo L, Asquiere E. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). Perú *Ciênc E Tecnol Aliment*. mayo de 2010; 30:151-60- Disponible en: <https://bit.ly/2k5iovC>
  55. Ungar Y, Osundahunsi O, Shimoni E. Thermal Stability of Genistein and Daidzein and Its Effect on Their Antioxidant Activity. *J Agric Food Chem*. [internet] 1 de julio de 2003;51(15):4394-9. [citado 25 de julio de 2019]; Disponible en: <https://bit.ly/2lzknlO>
  56. Ruiz Reyes G, Venegas Casanova E, Ruidias Romero D, López Cenizaro C; Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de

- Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco". Rev.Científica de la Facultad de farmacia y bioquímica; Trujillo – Perú enero del 2017; pág. 12-23.
57. Palomino R, Contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana "qihwncha", Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú 2018.

## **ANEXOS**



**Anexo 1.** Certificado de identificación botánica de las hojas de *Baccharis salicifolia* R.& P. "chilca" Ayacucho 2018.



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 el Bach. en Farmacia y Bioquímica Sr. Angel, PARIONA PAUCAR, 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	:	Baccharis
ESPECIE	:	<i>Baccharis salicifolia</i> R. & P.
SINÓNIMIA	:	<i>Baccharis lanceolata</i> (Kunth.)
N.V.	:	"chilca"

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

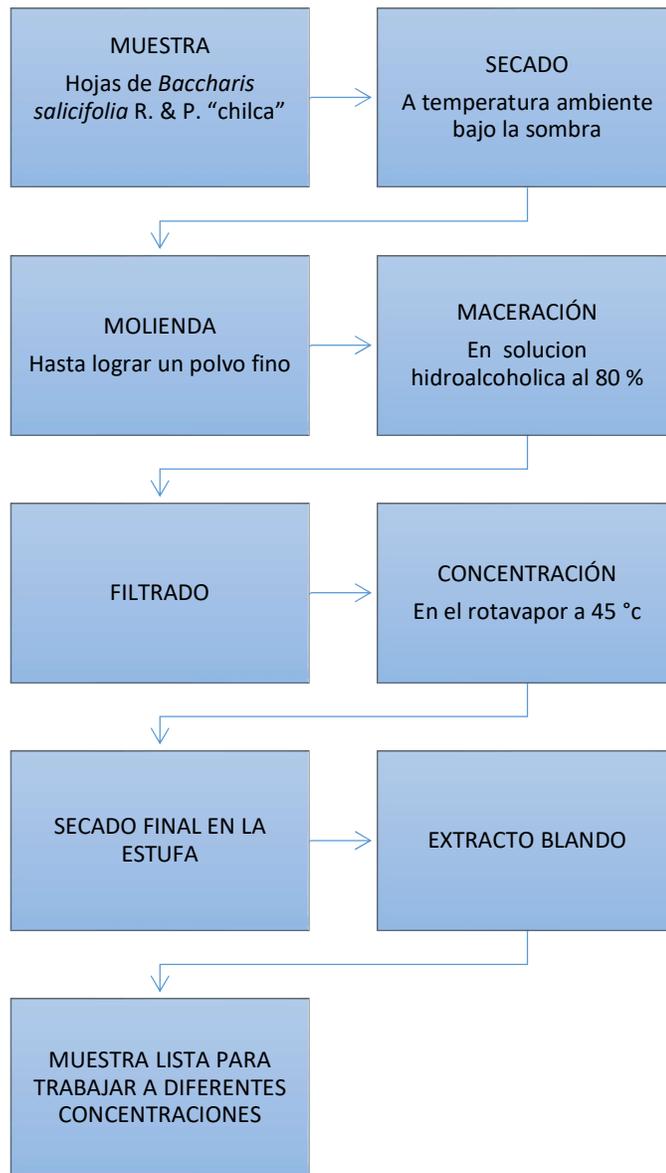
Ayacucho 27 de Agosto del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
Dña. Laura Mercedes Medina  
JEFE

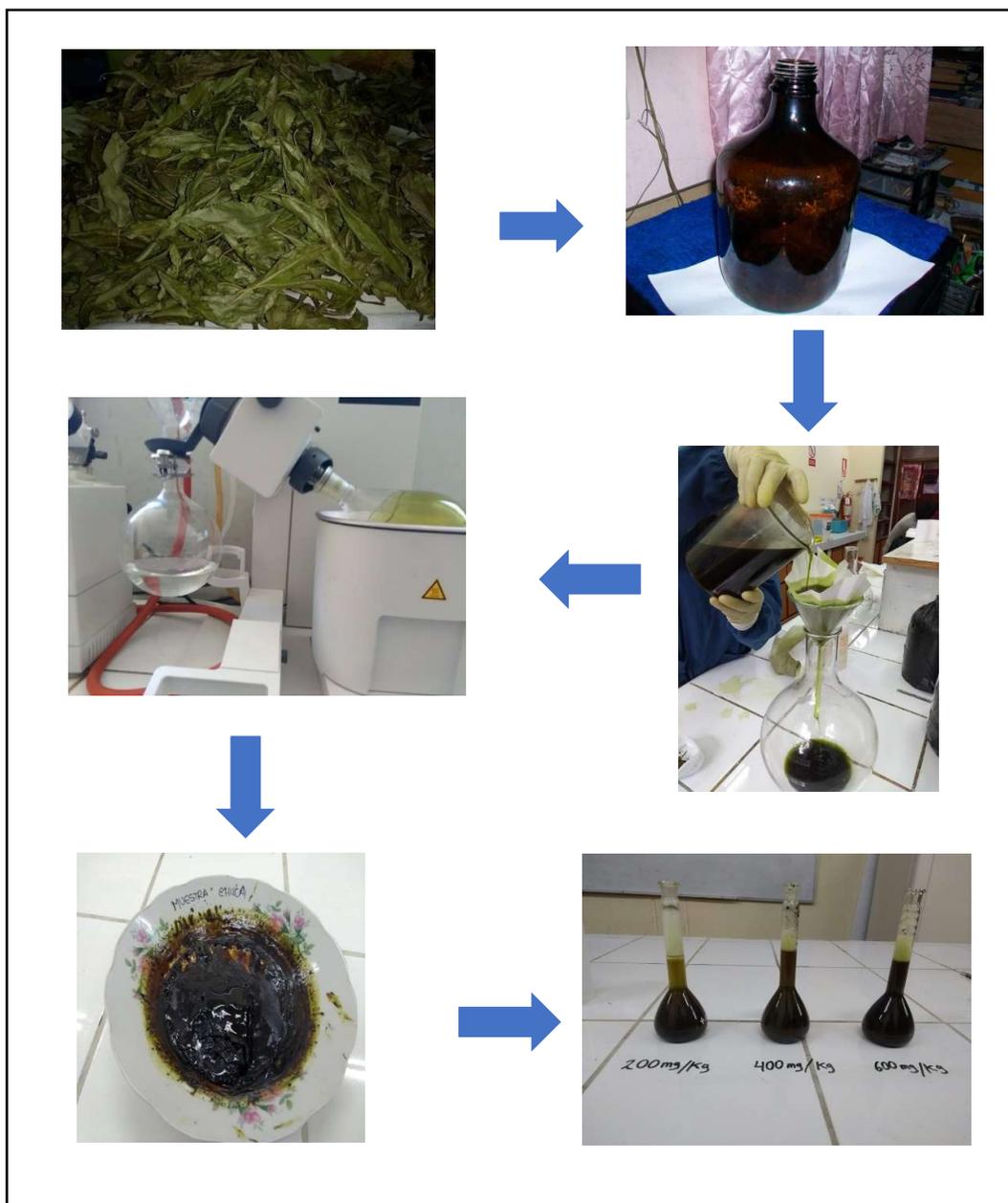
**Anexo 2.** Recolección de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca” en el distrito de Quinoa provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho 2018.



**Anexo 3.** Esquema de obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca" del distrito de Quinua provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho 2018.



**Anexo 4.** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca” secado, maceración, filtrado, concentración, extracto blando de la muestra y preparación a diferentes concentraciones Ayacucho 2018.



**Anexo 5.** Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.

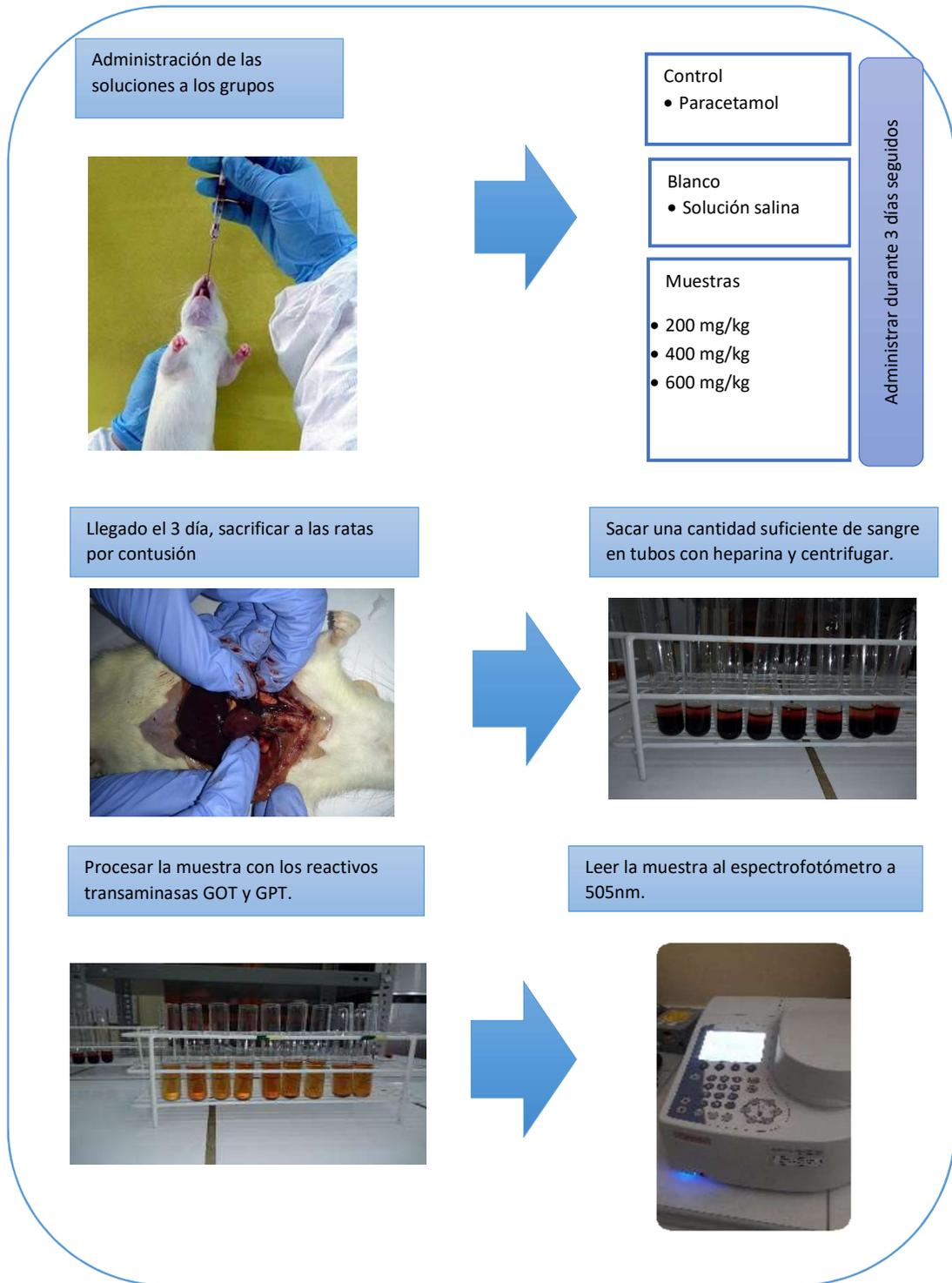


- A) Reacción de Dragendorff
- B) Reacción de Mayer
- C) Reacción con cloruro férrico
- D) Reacción de shinoda
- E) Reacción de Baljet
- F) Reacción de Fheling
- G) Reacción de Benedict
- H) Resinas
- I) Saponinas

**Anexo 6.** Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca" a diferentes concentraciones para la evaluación del efecto hepatoprotector: 200 mg/kg, 400 mg/kg y 600 mg/kg. Ayacucho 2018.



**Anexo 7.** Flujograma de la evaluación del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.



**ANEXO 8.** Análisis de varianza de los valores promedio de transaminasa glutámico oxalacética (GOT) por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	12010,0	4	3002,5	72,9	1,28 x 10 <sup>-15</sup>
Dentro de grupos	1317,8	32	41,2		
Total	13327,8	36			

**ANEXO 9.** Prueba de Duncan para para los valores promedio de los niveles de transaminasa glutámico oxalacética (GOT) por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.

F_GOT	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
Blanco	8	5,9			
EH 600 mg/kg	8	11,3			
EH 400 mg/kg	8		22,4		
EH 200 mg/Kg	8			31,4	
Paracetamol 600 mg/kg	8				45,3
Sig.		0,4	1,0	1,0	1,0

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 7,304.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

**ANEXO 10.** Análisis de varianza de los valores promedio de transaminasa glutámico pirúvica (GPT) por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.

GTP

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	3766,721	4	941,7	73,8	1,08 x 10 <sup>-15</sup>
Dentro de grupos	408,268	32	12,8		
Total	4174,989	36			

**ANEXO 11.** Prueba de Duncan para para los valores promedio de los niveles de transaminasa glutámico pirúvica (GPT) por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.

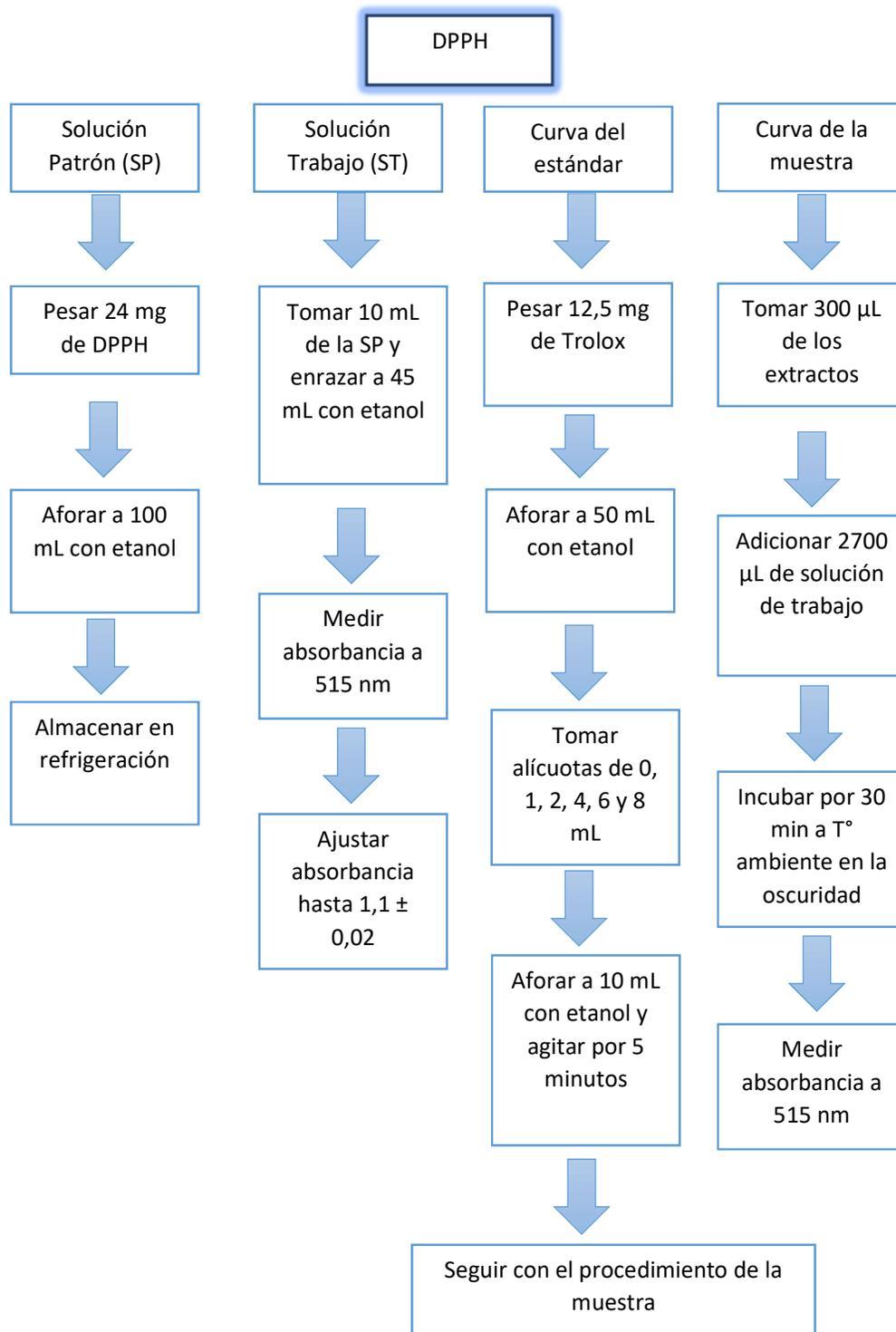
F_GPT	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
Blanco	8	4,6			
EH 600 mg/kg	8	9,6			
EH 00 mg/kg	8		17,5		
EH 200 mg/Kg	8			23,2	
Paracetamol 600 mg/kg	8				29,4
Sig.		0,4	1,0	1,0	1,0

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

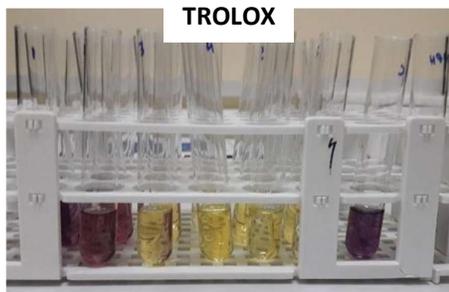
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 7,304.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

**Anexo 12.** Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante por el ensayo DPPH del extracto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.



**Anexo 13.** Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH del del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.



%AA DEL trolox						
E.A. [µg/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	26,14	0,292	1,117	0,73	26,86	25,41
50	53,39	0,267	0,501	0,66	54,06	52,73
100	94,84	0,173	0,182	0,43	95,27	94,41
150	95,38	0,173	0,181	0,43	95,81	94,95
200	95,69	0,096	0,100	0,24	95,93	95,45
250	96,13	0,083	0,086	0,21	96,34	95,92

Muestra de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca"



% AA del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. & P. "chilca".						
E.A. [µg/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	11,03	0,085	1,118	0,21	11,24	10,82
50	19,52	0,343	3,289	0,85	19,72	19,31
100	36,00	0,273	1,461	0,68	36,21	35,79

**Anexo 14.** Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método DPPH del extracto extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. “chilca”. Ayacucho 2018.

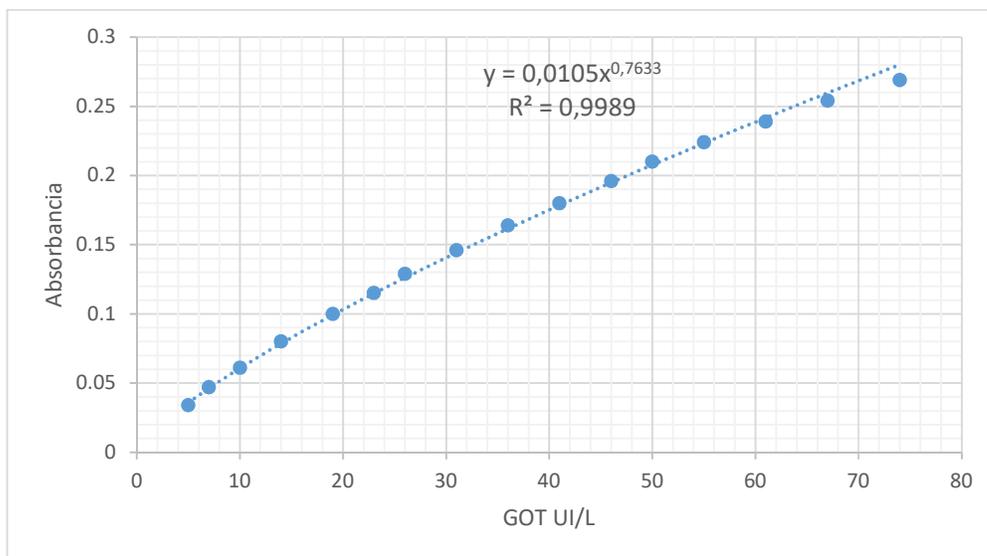
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	16857,8	5,0	3371,6	35094,0	1,5 x 10 <sup>-24</sup>
Dentro de grupos	1,2	12,0	0,1		
Total	16858,9	17			

Si: sig < 0,05 : por lo menos uno de los tratamientos es diferente al resto

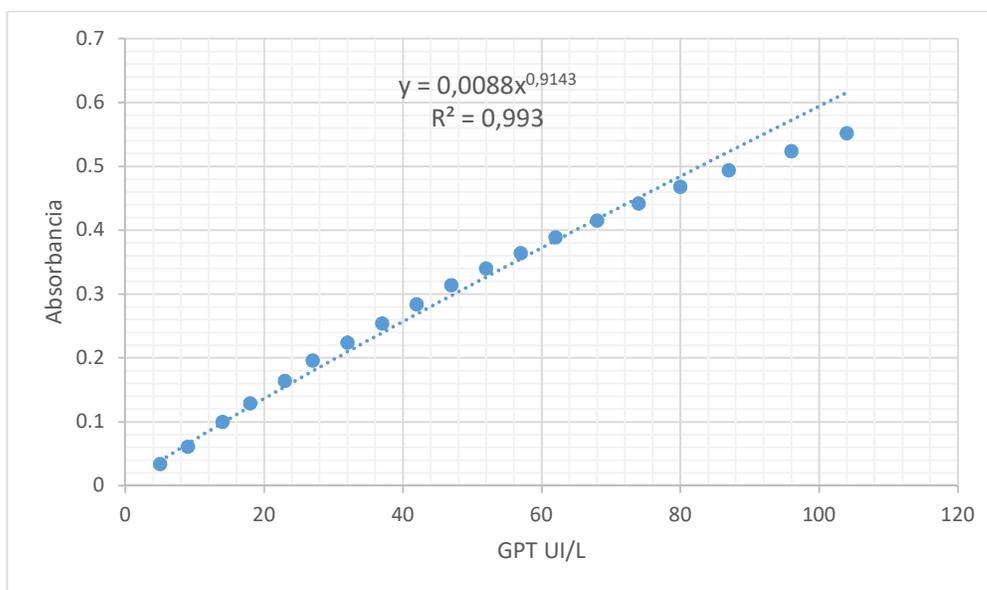
**Anexo 15.** Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
mp 25 µg/mL	3	11,0					
mp 50 µg /mL	3		19,5				
mp 100 µg /mL	3			36,0			
Trolox 25 µg /mL	3				26,1		
Trolox 50 µg /mL	3					53,4	
Trolox 100 µg /mL	3						94,8
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

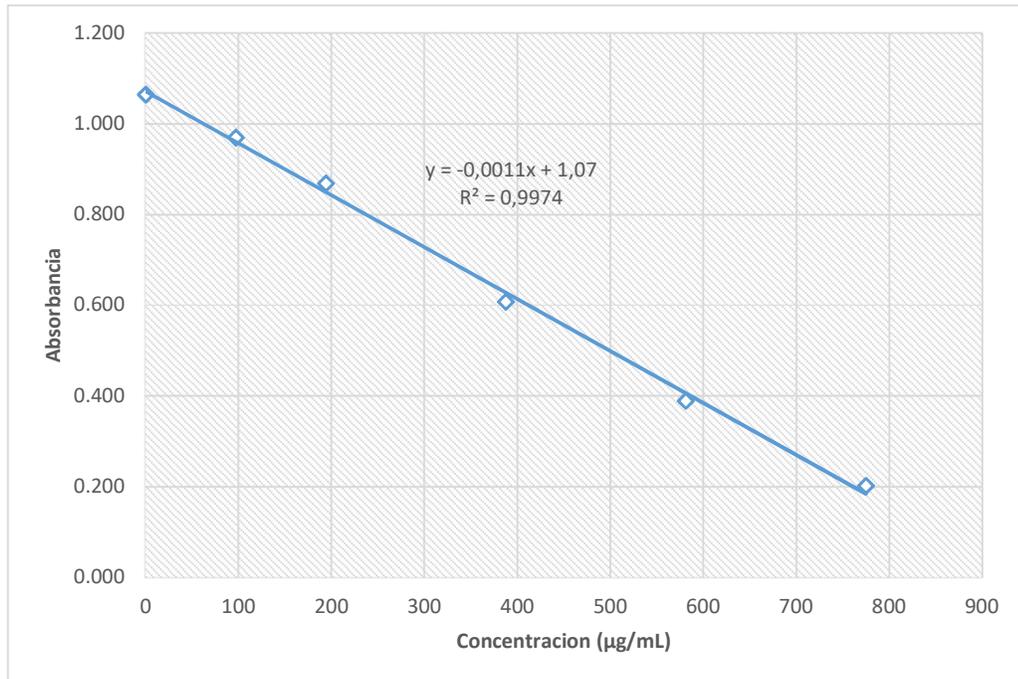
**Anexo 16.** Curva patrón de Absorbancia vs Concentración de transaminasa glutámico oxalacética (GOT) Ayacucho 2018.



**Anexo 17.** Curva patrón de Absorbancia vs Concentración de transaminasa glutámico pirúvica (GPT) Ayacucho 2018.



**Anexo 18.** Curva de calibración del trolox para determinar la actividad antioxidante por el método DPPH a longitud de onda 515nm, del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* R. & P. "chilca". Ayacucho 2018.



## Anexo 19. Protocolo para la preparación de los reactivos de medición de transaminasas GPT y GOT



# Transaminasas 200

Para la determinación de Transaminasa Glutámico Oxalacética (GOT(AST)) y Transaminasa Glutámico Pirúvica (GPT(ALT))

### SIGNIFICACION CLINICA

Las transaminasas GOT y GPT son enzimas ampliamente difundidas en el organismo con elevada concentración en corazón, hígado, músculo esquelético, riñón y eritrocitos. La actividad sérica en condiciones normales es baja o nula. Un daño o enfermedad en cualquiera de estos tejidos conduce a un aumento en los niveles séricos. Así, luego de un infarto de miocardio se produce en suero un marcado aumento de la actividad de GOT (abundante en músculo cardíaco). En hepatitis virales y otras formas de enfermedad hepática que involucren necrosis tisular, predominará la actividad sérica de GPT (abundante en tejido hepático). Una elevada actividad de transaminasas puede detectarse también en traumas accidentales o quirúrgicos y en distrofias musculares o miositis.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

La GOT cataliza la siguiente reacción:



La GPT cataliza la siguiente reacción:



El piruvato formado (el oxalacetato es inestable y se transforma en piruvato), reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidracina produciéndose, en medio alcalino, un compuesto coloreado que se mide a 505 nm.

### REACTIVOS PROVISTOS

- Transaminasas 200 GOT provee:

**A. Reactivo A:** solución con 100 mM de l-aspartato y 2 mM de  $\alpha$ -cetoglutarato en buffer fosfatos 100 mM, pH 7,4.

- Transaminasas 200 GPT provee:

**A. Reactivo A:** solución con 200 mM de di-alanina y 2 mM de  $\alpha$ -cetoglutarato en buffer fosfatos 100 mM, pH 7,4.

Además, ambos equipos proveen:

**B. Reactivo B:** solución conteniendo 1 mmol de 2,4-dinitrofenilhidracina (2,4-DNFH) en ácido clorhídrico 1 mol/l.

**C. Reactivo C:** solución de hidróxido de sodio 4 mol/l.

**S. Standard:** solución de piruvato de sodio 2 mmol/l. Para efectuar la curva de calibración.

### REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A (GOT o GPT):** listo para usar.

**Reactivo B:** listo para usar.

**Reactivo C diluido (0,40 mol/l):** preparación:

- Trasvasar el contenido del frasco a un matraz de 1 litro.
- Lavar el frasco con un pequeño volumen de agua destilada y pasar el líquido de lavado al matraz. Repetir esta operación 3-4 veces.
- Diluir con agua destilada hasta el aforo. Tapar y mezclar bien por inversión.
- Envasar en un frasco de plástico de buen cierre (no utilizar frasco de vidrio).

**Standard:** listo para usar en la curva de GPT. Diluir 1:2 con Reactivo A para la curva de GOT.

### PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

**Reactivo B y C:** corrosivos. H315 + H320: Provoca irritación cutánea y ocular. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE

#### ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** estables a temperatura ambiente (< 25°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

### INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas del Blanco inferiores a 0,270 D.O. a 505 nm son indicio de deterioro del mismo. También indica deterioro la aparición de turbidez.

### MUESTRA

Suero

**a) Recolección:** se debe obtener suero de la manera usual. No es necesario que el paciente esté en ayunas para la extracción de sangre.

**b) Aditivos:** no se requieren.

**ANEXO 20.** Tabla de conversión para el cálculo de resultados y determinar los valores de GOT y GPT.

c) **Sustancias interferentes conocidas:** los sueros hemolizados producen resultados falsamente elevados ya que los glóbulos rojos contienen 3 a 5 veces más enzimas que el suero. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) **Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** en caso de no efectuarse la determinación en el día, puede conservarse el suero refrigerado a 4°C durante no más de 5 días.

**MATERIAL REQUERIDO** (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Material volumétrico adecuado.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

**CONDICIONES DE REACCION**

- Longitud de onda: 505 nm en espectrofotómetro, Hg 546 o en fotocolorímetro con filtro verde (500-550 nm).
  - Temperatura de reacción: 37°C
  - Tiempo de reacción: 40 minutos
  - Volumen de muestra: 100 ul
  - Volumen final de reacción: 6,1 ml
- Alternativamente pueden disminuirse los volúmenes de Muestra y Reactivos a la mitad.

**PROCEDIMIENTO**

En dos tubos marcados B (Blanco) y D (Desconocido), colocar:

	B	D
<b>Reactivo A (GOT o GPT)</b>	0,5 ml	0,5 ml
Colocar en baño de agua a 37°C ± 0,5°C unos minutos.		
<b>Suero</b>	-	100 ul
<b>Agua destilada</b>	100 ul	-
Mezclar por agitación suave e incubar exactamente 30 minutos y agregar:		
<b>Reactivo B</b>	0,5 ml	0,5 ml
Mezclar. Dejar 10 minutos a 37°C. Luego agregar:		
<b>Reactivo C diluido</b>	5 ml	5 ml

Mezclar por inversión y retirar del baño. Después de 2 minutos leer la absorbancia en fotocolorímetro con filtro verde (500-550 nm); en espectrofotómetro a 505 nm o Hg 546, llevando el aparato a cero D.O. con agua destilada.

**ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL**

El color de la reacción es estable durante 30 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

**CALCULO DE LOS RESULTADOS**

a) **Empleando tablas de conversión:**

Este cálculo se basa en la absorbancia del cromógeno y

los valores de actividad enzimática pueden deducirse de las tablas de conversión obtenidas por comparación con el método UV convencional, siempre que las lecturas se efectúen en las siguientes condiciones de medida: cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, semiancho de banda ≤ 8 nm y longitud de onda 505 nm o Hg 546.

**GOT (30 min):**

Hg 546	Método UV convencional (U/l)	505 nm
0,020	5	0,034
0,030	7	0,047
0,040	10	0,061
0,050	14	0,080
0,060	19	0,100
0,070	23	0,115
0,080	26	0,129
0,090	31	0,146
0,100	36	0,164
0,110	41	0,180
0,120	46	0,196
0,130	50	0,210
0,140	55	0,224
0,150	61	0,239
0,160	67	0,254
0,170	74	0,269

**GPT:**

Hg 546	Método UV convencional (U/l)	505 nm
0,020	5	0,034
0,040	9	0,061
0,060	14	0,100
0,080	18	0,129
0,100	23	0,164
0,120	27	0,196
0,140	32	0,224
0,160	37	0,254
0,180	42	0,284
0,200	47	0,314
0,220	52	0,340
0,240	57	0,364
0,260	62	0,389
0,280	68	0,415
0,300	74	0,442
0,320	80	0,468
0,340	87	0,494
0,360	96	0,524
0,380	104	0,552

b) **Empleando curva de calibración:**

Emplear el Standard como se indicó en INSTRUCCIONES PARA SU USO. En 9 tubos colocar:

## Anexo 21. Tabla de valores normales de transaminasas hepáticas GOT y GPT.

Tubo	Standard (ml)	Reactivo A (ml)	Agua dest. (ml)	GPT (U/l)	GOT (U/l)
1	0,00	1,00	0,2	-	-
2	0,05	0,95	0,2	9	7
3	0,10	0,90	0,2	18	12
4	0,15	0,85	0,2	25	20
5	0,20	0,80	0,2	37	28
6	0,25	0,75	0,2	46	37
7	0,30	0,70	0,2	56	48
8	0,40	0,60	0,2	79	81
9	0,50	0,50	0,2	113	-

Mezclar y agregar a cada tubo, con intervalos de 1/2 minuto entre uno y otro, 1 ml de Reactivo B. Mezclar. Incubar 10 minutos a 37°C (contados desde el agregado del Reactivo B al primer tubo). Luego agregar 10 ml de Reactivo C preparado a cada tubo, manteniendo el intervalo de 1/2 minuto. Mezclar cada tubo inmediatamente por inversión y retirar del Baño. Diez minutos después, leer absorbancia con filtro verde (500-550 nm) o en espectrofotómetro a 505 nm, llevando el aparato a cero D.O. con agua destilada. El color es estable 30 minutos.

Restar a cada lectura la obtenida con el tubo N° 1, obteniéndose las Lecturas Corregidas.

En un papel milimetrado, trazar un sistema de coordenadas colocando en el eje vertical las Lecturas Corregidas y en el horizontal las actividades para GPT y GOT. Determinar en el gráfico los puntos correspondientes a cada tubo. Uniéndolos se obtienen las curvas respectivas para GOT y GPT. Tener en cuenta que para cada técnica debe utilizarse el gráfico correspondiente.

### CONVERSION DE UNIDADES

Los resultados pueden ser expresados en U/l o en las antiguas unidades del método (Karmen o Wroblecky), para lo que deben utilizarse las siguientes equivalencias:

$$U/l = UKarmen/ml \text{ (o Wroblecky/ml)} \times 0,482$$

$$UKarmen/ml \text{ (o Wroblecky/ml)} = U/l \times 2,07$$

No obstante debe tenerse en cuenta que en sueros patológicos la conversión no siempre es exacta.

### VALORES DE REFERENCIA

Se consideran valores normales de transaminasas (GOT y GPT) hasta 12 U/l. Si bien se han hallado individuos normales con valores hasta 18 U/l, los niveles de transaminasas que se encuentren entre 12 y 18 U/l deben considerarse sospechosos.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

- La temperatura ambiente y el tiempo de incubación son críticos. Por cada grado de temperatura, la variación es aproximadamente del 7%.
- El autor del método recomienda procesar un blanco de sue-

ros (sin incubar o agregando el suero después del Reactivo B) cuando se trabaja con muestras hemolizadas, muy ictericas o cuando se sospecha la presencia de cetosis.

### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día, se obtuvieron los siguientes datos:

#### GOT:

Nivel	D.S.	C.V.
19,3 U/l	± 1,50 U/l	7,77 %
49,0 U/l	± 2,19 U/l	4,47 %
66,5 U/l	± 3,44 U/l	5,17 %

#### GPT:

Nivel	D.S.	C.V.
16,5 U/l	± 0,79 U/l	4,79 %
23,3 U/l	± 1,16 U/l	4,98 %
44,8 U/l	± 2,35 U/l	5,25 %

**b) Límite de detección:** depende del fotómetro empleado.

En espectrofotómetro a 505 nm (con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, reproducibilidad ± 2 nm, luz espuria ≤ 0,5 %, semiancho de banda ≤ 8 nm) para un cambio mínimo de 0,001 D.O. el mínimo cambio de actividad detectable será de 0,5 U/l para un nivel de GOT de 88 U/l y 0,2 U/l para un nivel de GPT de 64 U/l.

**c) Rango dinámico:** si la actividad de la muestra es mayor de 80 U/l de GOT o GPT, debe repetirse la determinación diluyendo previamente la muestra con solución fisiológica o empleando menor cantidad de suero.

### PRESENTACION

**GOT:** equipo para 200-400 determinaciones (Cód. 1751002).

**GPT:** equipo para 200-400 determinaciones (Cód. 1761002).

### BIBLIOGRAFIA

- Reitman, S. & Frankel, F. - Am. J. Clin. Path. 28:56 (1957).
- Frankel, S. - Gradwohl's Clinical laboratory methods and diagnostic Vol. 1 pág. 123 - Ed. por Frankel, Reitman y Sonnenwirth - (7ª Ed., 1970).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4ª ed., 2001.

**Anexo 22.** Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivo	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Metodología
<p>Efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca". Ayacucho 2018.</p>	<p>¿Tendrá efecto hepatoprotector y antioxidante, el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca"?</p>	<p><b>Objetivo General</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Demostrar el efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca" en ratas.</li> </ul> <p><b>Objetivo Específico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evidenciar la presencia de los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca" mediante reacciones químicas de coloración y precipitación.</li> <li>• Determinar los niveles de transaminasas GOT y GPT.</li> <li>• Determinar el porcentaje de actividad antioxidante midiendo la captación de radicales libres DPPH.</li> </ul>	<p>Antecedentes del estudio <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca".</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Taxonomía</li> <li>• Descripción botánica</li> <li>• Hábitat y distribución</li> <li>• Usos medicinales</li> <li>• Composición química del género <i>Baccharis</i></li> <li>• Hepatotoxicidad por fármacos</li> <li>• Biotransformación de fármacos en el hígado</li> <li>• Tipos de lesión hepática producida por fármacos</li> <li>• Diagnóstico de hepatotoxicidad</li> <li>• Antioxidante</li> <li>• Radical libre</li> <li>• Estrés oxidativo</li> <li>• Trolox</li> <li>• Relación antioxidante y hepatoprotector</li> </ul>	<p><b>Hi:</b> El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca", tiene efecto hepatoprotector y antioxidante.</p> <p><b>Ho:</b> El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca", no tiene efecto hepatoprotector y antioxidante.</p>	<p><b>V.I.:</b> Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca".</p> <p><b>INDICADOR:</b> Dosis de 200, 400 Y 600 mg/kg para la hepatotoxicidad y 25, 50, 100 µg/ml para la actividad antioxidante.</p> <p><b>V.D.:</b> Niveles de transaminasas (GOT y GPT). Y porcentaje de captación de radicales libres (DPPH).</p> <p><b>INDICADOR:</b> valores de los niveles de transaminasas GOT y GPT, y el porcentaje de captación de radicales libres.</p>	<p><b>Población:</b> Constituida por las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca".</p> <p><b>Muestra:</b> Constituida por Quinientos gramos de hojas secas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca".</p> <p><b>Unidad experimental:</b> Se contará con 40 ratas albinas machos con peso promedio de 180 ± 10 g.</p> <p><b>Métodos instrumentales para la recolección de datos</b> Las mediciones experimentales serán objetivas por lo que se empleará un espectrofotómetro UV/vis, como instrumento de medida.</p> <p><b>Diseño de investigación:</b> el diseño será experimental con prueba y grupo control de la siguiente manera.</p> $\begin{array}{ccccc} G_e & \longrightarrow & X & \longrightarrow & O_1 \\ G_c & \longrightarrow & -- & \longrightarrow & O_2 \end{array}$ <p><b>Procedimiento experimental:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Recolección, secado, molienda y tamizaje de la muestra.</li> <li>• Maceración del extracto hidroalcohólico.</li> <li>• Proceso de filtración.</li> <li>• Tamizaje fitoquímico del Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R. &amp; P. "chilca".</li> <li>• Preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> R.&amp;P. "chilca" y del blanco.</li> <li>• Evaluación del efecto hepatoprotector y antioxidante, se seguirá la técnica descrita por Bermúdez <i>et al</i> y Sousa <i>et al</i> respectivamente.</li> </ul> <p><b>Análisis de datos</b> Con un análisis de varianza (ANOVA) con un valor de significancia estadístico de 0,05 en el software SPSS v24.</p>