

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Actividad antioxidante de la crema elaborada a
base del extracto hidroalcohólico de las hojas de
Calceolaria engleriana Kraenzl "wawillay".
Ayacucho - 2012.**

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

PRESENTADO POR:

Bach. DEL SOLAR CARDENAS DIANA CAROLINA

AYACUCHO - PERÚ

2012

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y a mis padres Carlos y Eduardina por la fe y confianza que siempre me han brindado.

AGRADECIMIENTOS

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

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y en especial al "Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos" a sus docentes por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional.

Un reconocimiento especial a mi asesor Mg. Marco Rolando ARONÉS JARA, por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la concreción de esta tesis.

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

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	04
2.1 Antecedentes	04
2.2 Aspectos botánicos de <i>Calceolaria engleriana</i> Kraenzl	05
2.3 Radicales libres y antioxidantes	11
2.4 Formas farmacéuticas semisólidas	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1 Ubicación	15
3.2 Materiales	15
3.3 Método de recolección de datos	16
3.4 Análisis estadístico	24
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES	42
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXOS	48

Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay”. Ayacucho- 2012.

Autor : Bach. Diana Carolina, DEL SOLAR CARDENAS

Asesor : Mg. Marco Rolando ARONÉS JARA

RESÚMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay” que fueron recolectadas en el centro poblado de Anchac-Wasi del distrito de Vinchos, del departamento de Ayacucho, durante el mes de junio del 2012. La identificación de la especie se realizó con la ayuda del Herbarium Huamangensis de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, el tamizaje fitoquímico según Miranda y Cuéllar (2000) y Lock de Ugaz (1994), la actividad antioxidante se determinó por el método espectrofotométrico usando el DPPH (1,1 difenil-2 picrilhidrazil), como fuente de radicales libres (Szabo y Col., 2007). Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico fueron: flavonoides, taninos, fenoles, naftoquinonas, azúcares reductores, catequinas, quinonas, triterpenos y esteroides. Se elaboraron cremas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay” a concentraciones de 0,5%; 1,0% y 2,0%, presentaban un color que dependía de la concentración del extracto, un olor *sui generis*, un sabor amargo, aspecto homogéneo, pH cercanos a la piel, emulsión O/W, y alta extensibilidad. La crema al 0,5% presentó mayor porcentaje de inhibición de radicales libres ($99,46 \pm 0,11$), respecto a las cremas al 1,0% y 2,0%, que presentaron porcentajes de $99,10 \pm 0,46\%$ y $96,45 \pm 0,53\%$ respectivamente. Sin embargo, todos los porcentajes de inhibición de las cremas al 0,5; 1,0 y 2,0% a las diferentes diluciones son estadísticamente similares ($p > 0,05$). Se concluye que las cremas a diferentes concentraciones tienen actividad antioxidante.

Palabras claves: Actividad antioxidante, extracto hidroalcohólico, *Calceolaria engleriana* Kraenzl.

I. INTRODUCCIÓN

La amplia y variada flora peruana es y seguirá siendo uno de los recursos naturales más importantes ya que gracias a las investigaciones químicas y farmacológicas de estas plantas utilizadas en la medicina popular ha permitido que muchas industrias farmacéuticas elaboren productos a base de extractos de estos vegetales, ya sea por proceso de liofilizado, atomizado y simple evaporación, los mismos que se comercializan como suplemento alimenticio, recurso natural y producto natural de uso en salud. Con esta investigación tratamos de aportar en algo el uso de cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay".

Actualmente, se sabe que tanto por causas ambientales (radiación), así como por la ingesta de algún contaminante o incluso como consecuencia de nuestro metabolismo, surgen algunas moléculas que nos pueden provocar daño. A estas se las conoce como especies oxígeno reactivas (ROS), que se asocian a enfermedades como cáncer, problemas cardíacos o al natural envejecimiento humano. Entre los problemas que originan figuran: destrucción de las paredes celulares, inactivación de enzimas, debilitamiento de la capacidad defensiva,

alteración del sistema inmunológico e incluso daño del material genético (Neira y Yuri, 2004).

Los antioxidantes son un grupo de moléculas reconocida por su capacidad para neutralizar los radicales libres, estas sustancias han surgido como una alternativa para combatir las deficiencias asociadas al estrés oxidativo (Castañeda y Col., 2008).

Los flavonoides como los ácidos fenólicos han demostrado ser fuertes atrapadores de radicales libres y al mismo tiempo son capaces de inhibir la formación de estos últimos al enlazarse con iones de metales de transición (Zavaleta y Col., 2005).

Las cremas son emulsiones formadas por mezclas de dos fases insolubles entre sí, una soluble en agua y otra en grasas. La emulsión se encuentra estable a la temperatura ambiente cuando se le agrega un agente emulsificante y se obtiene una mezcla homogénea al agitarse por lo que así se puede incorporar una fase en la otra a la temperatura mayor que el punto de fusión de cada fase (Blanco, 2011).

En la actualidad no hay estudios ni evidencias de que la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay” tengan un efecto antioxidante, motivo por el cual se realizó el presente estudio.

Calceolaria engleriana Kraenzl es una planta que pertenece a la familia Scrophulariales, comúnmente conocida como “wawillay”. Es conocida por su uso tradicional en afecciones digestivas y diuréticas, por eso que constituye una alternativa de solución al deterioro progresivo de las células, las enfermedades gastrointestinales y las enfermedades infecciosas, dando la oportunidad de

contribuir a la sustitución de medicamentos de alto costo y garantizar el uso de lo empírico en la medicina tradicional.

Las investigaciones sobre el estudio de plantas medicinales son reconocidas y de gran importancia para la Organización Mundial de la Salud. La forma farmacéutica semisólida elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay" servirá como una alternativa medicamentosa para el tratamiento de procesos degenerativos de la piel. Se plantearon los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay".

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar los parámetros físico químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay".
- Determinar los metabolitos secundarios de la *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay" a través del tamizaje fitoquímico.
- Determinar los parámetros físico químicos de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay".
- Determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

Mujica y Col., (2010), evaluaron la formulación de un producto cosmético crema antiarrugas a partir del aceite de semilla de "mery" (*Anacardium Occidentale L*), obteniendo los siguientes valores para el producto cosmético con respecto a pH, densidad relativa, viscosidad dinámica a 40°C y 10 rpm e índice de acidez: 7,50; 1,2468 g/mL; 21,000 cP y 1,85 mg NaOH/g respectivamente. En el estudio preliminar de mercado se indica una aceptación del producto cosmético, calificando al mismo en aspecto, olor y absorción como bueno y muy bueno. Se logró un 78,4 % de atenuación de las arrugas.

Casanova (2004), evaluó la actividad antioxidante y antiulcerosa del extracto acuoso liofilizado de *calceolaria cuneiformes R y P* "ayapa zapatum", evaluó la actividad antioxidante por el método espectrofotométrico usando el DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl- hydrazyl) demostrando que el extracto acuoso liofilizado presenta una buena actividad antioxidante con un porcentaje de 86,90% al tratamiento de 125ug/ml. Del Castillo (2002), realizó el tamizaje fitoquímico y evaluó la actividad hipoglicemiante y toxicidad aguda de *Calceolaria engleriana*

Kranzlin subsp Lutea Molau, el extracto acuoso liofilizado (EAL) presentó triterpenos, esteroides, flavonoides y taninos catéquicos.

Condorhuamán (2009), evaluó el efecto hipotensor, diurético y toxico del extracto acuoso de *Calceolaria myriophylla* Kraenzl "zapatilla". El efecto hipotensor a dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg y Enalapril a dosis de 25 mg/kg, el efecto diurético en grupos de dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg y la toxicidad a dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg, Se demostró que el extracto acuoso de *Calceolaria myriophylla* Kraenzl presenta efecto hipotensor, diurético y antioxidante sin efectos tóxicos.

Lastra y Yáñez (2004), demostraron el efecto gastroprotector sobre lesiones gástricas inducidas por indometacina en ratas al utilizar el extracto hidroalcohólico de *Calceolaria myriophylla*. También determinaron la presencia de constituyentes químicos como azúcares reductores, heterósidos, flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, saponinas y cumarinas.

2.2. *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay"

2.2.1. Clasificación Taxonómica

La clasificación taxonómica de la planta es la siguiente:

División	:	MAGNOLIOPHYTA
Clase	:	MAGNOLIOPSIDA
Subclase	:	ASTERIDAE
Orden	:	SCROPHULARIALES
Familia	:	SCROPHULARIACEAE
Género	:	Calceolaria
Especie	:	<i>Calceolaria engleriana</i> Kraenzl

Nombre Vulgar : "wawilay"

Fuente: Certificado del Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencia Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga (Anexo N° 1).

2.2.2. Descripción botánica de la familia Scrophulariaceae

La familia Scrophulariaceae es reconocida en el Perú por presentar dos géneros y 121 especies, principalmente arbustos y hierbas, las hojas alternas, opuestas y verticiladas sin estipulas, las flores solitarias o dispuestas en inflorescencia racimosas o cimosas, son hermafroditas, zigomorfas en mayor o menor grado, pentámeras. Cáliz con cinco sépalos iguales, lobados o con el posterior más o menos reducido o completamente abortado; corola bilabiada o personada, también tubular o embudada. Estambres dos o cuatro (didínamos), raras veces cinco, insertos en el tubo corolino. Ovario supero, bi-carpelar, bi-ocular, a veces unilocular multiovular, estilo entero bifido. Fruto, capsula o baya, semilla con tejido nutritivo. Se reportó la presencia de flavonoides comunes en algunas especies de la familia Scrophulariaceae como son la Luteolina, Crysoeriol y Apigenina 7-glucósido (Molau, 1988).

2.2.3. Descripción del género *Calceolaria*

Este género se caracteriza por comprender 181 especies en el geotrópico, son plantas herbáceas anuales o perennes, de unos 0,2 a 1,2 m de altura, sub arbustos o arbustos, hojas simples, opuestas y decusadas o ternadas, raro alternas. Inflorescencia usualmente en cimas, en algunas especies flores solitarias. Cáliz 4 - partido. Corola bilabiada, usualmente amarilla, labio superior formado por las piezas coralinas adaxiales; labio inferior formado por las tres piezas coralinas adaxiales, sacciforme y de mayor tamaño que el labio superior normalmente con una zona de tricomas glandulares secretoras de aceites

conocida como elaióforo; estambres, anteras con dehiscencia longitudinal. Ovario bilocular, bicarpelar, supero o semiínfero; estilo simple capitado o inconspicuo. Fruto capsula pluriseminada, dehiscente distalmente en cuatro valvas. Semillas pequeñas, casi lineales, elipsoides y algo recurvadas, testa ornamentada, con costillas longitudinales (Puppo, 2006).

2.2.4. Descripción geográfica del género *Calceolaria*

Alrededor de 200 géneros pertenecen a la familia Scrofulariaceae y alrededor de 4900 especies están distribuidas a nivel mundial, especialmente en las regiones de temperatura templada (Aedes, 1998).

La distribución de *Calceolaria* va del sur de la sierra madre occidental en México, hasta los Andes del sur en la Tierra de fuego, la mayoría de las especies están en alturas que oscilan los 2000 a 4000 msnm (Molau, 1988).

Según el estudio realizado por el botánico Ulf Molau (1983), *Calceolaria engleriana* Subsp. *Lutea* Molau es endémica de los andes centrales del Perú, siendo encontrado en los departamentos de Junín y Ayacucho; en las laderas de la "puna", en pendientes rocosas cerca de escorrentías de agua, canales de regadío, terrenos de cultivo, en suelos franco arenosos y pedregosos. Aproximadamente de 3000 a 3500 msnm.

2.2.5. Composición química

Se han realizado diversos estudios sobre la composición química del género *Calceolaria*, identificando algunos compuestos químicos, como resultado de estudios fitoquímicos, donde se reportan la presencia de taninos, flavonoides, esteroides, quinonas, cardenólidos, esteroides, anillos lactona, triterpenos y en los últimos años han sido reportados muchos nuevos diterpenos.

Silva y Col., (1993), aislaron los diterpenos de las partes aéreas de *Calceolaria petiolaris*, llegando a identificarlos como: 18.-maloniloxi.-9.-epi.-eti.-7.-15.-.pimaradieno, 18.-hidroxi.-9.-epi.-ent.-7.-15.-.pimaradieno, 18.-acetoxi.-9.-epi.-ent.-7.-15.-.pimaradieno y el Petiolato (un bis -diterpeno).

Romero y Col., (2009), en el trabajo de investigación realizado sobre el género *calceolaria* en 6 especies siendo una de ellas la *Calceolaria engleriana* Kraenzl determinaron la presencia de compuestos fenólicos como taninos flavonoides y catequinas; los terpenoides como monoterpenos, diterpenos sesquiterpenos, triterpenos y/o esteroides, corroboradas por cromatografía en capa fina y pruebas espectrales.

Del Castillo (2002), identificó en el tamizaje fitoquímico de *Calceolaria engleriana* Kranzlin subsp Lutea Molau, los metabolitos secundarios triterpenos y esteroides, flavonoides y taninos catéquicos, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Lastra y Yañez (2004).

2.2.6 Metabolitos secundarios

Según Lock de Ugaz (1994) los metabolitos secundarios son:

a) Flavonoides.- Los Flavonoides se forman biogenéticamente a través de la ruta del Shikimato y del acetato malonato, siendo la chalcona el flavonoide inicialmente formado, y a partir de la cual se derivan las otras clases por posteriores modificaciones que ocurren en varias etapas. Los principales flavonoides son: flavona, flavonol, aurona, chalcona, etc. tiene propiedad antiinflamatoria, antioxidante, vasoprotector y protector de la mucosa gástrica.

b) Taninos.- Son compuestos químicos complejos no cristalizables que forman con el agua soluciones coloidales de acción ácida y de sabor muy acre; resultantes de la polimerización de polifenoles, por hidrólisis liberan ácido gálico,

que se transforma en pirogalol, ácido protocatéuico, etc. Los taninos tienen un poder astringente y tienen la capacidad de capturar radicales libres, contribuyendo así a las acciones farmacológicas.

c) Triterpenos y esteroides.- Son compuestos con un esqueleto carbonado basado en seis unidades de isopreno que derivan biogénicamente del escualeno, hidrocarburo acíclico de 30 carbonos. No existe una diferencia fundamental entre los triterpenos y esteroides considerándose a los esteroides como triterpenos tetracíclicos.

d) Quinonas.- Son dicetonas insaturadas, que por reducción se convierten en polifenoles los que fácilmente se regeneran por oxidación. Para un estudio más preciso las quinonas se subdividen en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas, quinonas isoprenoides. Algunas presentan propiedades antimicóticas, antirreumáticas, bacteriostáticas, entre otros.

e) Naftoquinonas.- Las naftoquinonas son pigmentos naturales, que tienen como característica estructural poseer dos grupos carbonilo en las posiciones 1,4 y con menor frecuencia en 1,2 ó 1,3 en el anillo del naftaleno, de donde deriva su nombre común. En la naturaleza se presentan con grupos hidroxilo y/o metilo como sustituyentes, además de encontrarse en forma libre o condensada con diversos monosacáridos^{1, 2}. Además de las propiedades tintóreas de las naftoquinonas y sus derivados, se han descrito importantes actividades biológicas destacando como agentes antiparasitarios, antibacterianos, antifúngicos y anticancerígenos (Khambay y Col.,1999).

f) Fenoles ácidos y ácidos fenólicos.- Algunos de los compuestos químicos bioactivos más sencillos son derivados mono sustituidos del anillo fenol. Entre ellos destacan el ácido caféico y el ácido cinámico, donde reportan que el ácido caféico es eficaz frente a las bacterias, hongos y virus. La posición y el número

de grupos hidroxilo del grupo fenol parecen influir en el efecto antimicrobiano de tal forma que a mayor grado de hidroxilación mayor poder tóxico y mayor poder inhibitorio.

2.2.7. *Calceolaria engleriana* Kraenzl en la medicina tradicional

En el empleo de la medicina tradicional, a la planta silvestre *Calceolaria engleriana* Kraenzl se le atribuye ciertas propiedades medicinales como: diurético, digestivo, astringente, febrífugo, antiulceroso e hipoglucemiante, también se le describe por su uso para las tos, resfrío y retraso menstrual; éstas son usadas en forma de infusión las hojas y flores frescas tomándolas después de los alimentos (Pérez, 2012).

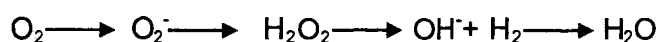
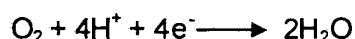
Del Castillo (2002), menciona que hay otras especies como: *Calceolaria engleriana*. que se utiliza como hipoglucemiante esta propiedad se le atribuye a la planta entera, *Calceolaria deflexa* R&P especie silvestre que se utiliza como “llipta” para el chacchado de la coca, *Calceolaria cuneiforme* R&P, se utiliza como diurético en infecciones uterinas, como infusión de toda la planta y como cosmético, quita las manchas de la piel y elimina cicatrices el polvo de la flor, *Calceolaria herzogiana*, es una especie silvestre utilizado para problemas estomacales, *Calceolaria pinnata* L, especie silvestre distribuida entre la costa y la sierra, utilizada como diurético, *Calceolaria santolinoides* Kraenzlin, posee floración estival y sus órganos aéreos se emplean en medicina tradicional como facilitadores del parto, aplicación que se proyecta también como abortiva, *Calceolaria herbeo-hybrida*, se encuentra en la costa como una especie cultivada ornamentalmente (Brack, 1999 y Cabrera, 1993).

2.3. Radicales libres y antioxidantes

2.3.1. Radicales libres

Se consideran radicales libres (RL) a aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo. Esta configuración espacial les hace muy inestable, extraordinariamente reactivos y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse con la mayoría de las biomoléculas celulares (carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos) provocando un gran daño en ellas y en las membranas celulares (Gilca y Col., 2007).

La mayor parte del oxígeno utilizado por el organismo humano es reducido a agua por la acción del complejo citocromo-oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial. En este proceso de fosforilación oxidativa el oxígeno actúa como aceptor final de electrones, adquiriendo un total de cuatro electrones con producción de dos moléculas de agua. La reacción global es la siguiente:



Una consecuencia de este proceso es la producción de intermediarios parcialmente reducidos que son los RL llamados Especies Reactivas de Oxígeno (ERO):

O_2^- = radical superóxido; H_2O_2 = peróxido de hidrógeno; OH^\cdot = radical hidróxilo.

El radical hidroxilo es con diferencia el más dañino de los tres, con una vida media muy corta y una alta reactividad. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) no es estrictamente un RL, pero por su capacidad de generar el OH^\cdot en presencia de metales como el hierro divalente (reacción de Fenton) se le considera como tal. El daño biológico causado por el OH^\cdot es el destruir las membranas celulares en

una reacción en cadena que se denomina peroxidación de lípidos dando como resultado un radical centrado en un carbono (-C-) en la membrana (Gilca y Col., 2007).

Las fuentes de los radicales libres en la mitocondria constituye la fuente principal de RL. Otras fuentes son las peroxisomas, y también los leucocitos polimorfos nucleares que constituyen una fuente importante, cuando en los procesos inflamatorios se activan por diversas proteínas que actúan específicamente sobre ellos (complemento, interleukinas, etc.). Los leucocitos poseen en sus membranas la enzima NADPH oxidasa generadora de O_2 que en presencia de hierro se transforma en el altamente tóxico OH^- (Gilca y Col., 2007).

La toxicidad de los radicales libres se debe por la alta inestabilidad atómica de los RL colisionan con una biomolécula y le sustraen un electrón, oxidándola, perdiendo de esta manera su función específica en la célula. En el caso de los lípidos (ácidos grasos poliinsaturados), los RL dañan las estructuras ricas en ellos como las membranas celulares y las lipoproteínas. En las primeras se altera la permeabilidad conduciendo al edema y la muerte celular y en la segunda, la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), génesis de la placa ateromatosa (Gilca y Col., 2007).

2.3.2. Antioxidantes

Los antioxidantes son un grupo de moléculas reconocidas por su capacidad para neutralizar los radicales libres, éstas sustancias han surgido como una alternativa para combatir las deficiencias asociadas al estrés oxidativo (Castañeda y Col., 2008).

Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y el sistema no enzimático; también conocido como

endógeno y exógeno respectivamente; las cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular. El primer sistema de defensa corresponde a las enzimas antioxidantes o endógenas, está basado en un complejo enzimático de defensa que puede incluir a la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa, a la tiorredoxina reductasa y al glutatión reductasa. El segundo sistema de antioxidantes no enzimáticos o exógenos, es un sistema paralelo al primero y especialmente útil cuando el sistema endógeno se satura. Está determinado por una serie de sustancias llamados depuradores o radicales libres; los cuales intervienen logrando retrasar la producción de radicales libres. Algunos antioxidantes no enzimáticos son el glutatión, el ácido lipoico, la bilirrubina, los compuestos fenólicos, los flavonoides, la vitamina C y la vitamina E (Zavaleta y Col., 2005).

2.4. Forma farmacéutica. Se denominan preparados farmacéuticos o formas medicamentosas, a los productos elaborados a partir de las drogas para poder ser administradas al organismo. Estos preparados pueden tener una o varias drogas y son confeccionadas por el farmacéutico o la industria farmacéutica. Existen en estado sólido, semisólido, líquido, gaseoso, soluciones, suspensiones, emulsiones o dispersiones coloidales (Blanco, 2011).

2.4.1. Formas farmacéuticas semisólidas

Son preparaciones de consistencia semisólida destinadas a ser aplicadas sobre la piel o sobre ciertas mucosas con el fin de ejercer una acción local o dar lugar a la penetración percutánea de principios activos; o por su propia acción emoliente o protectora (Farmacopea de los EE.UU Mexicanos, 1988).

Los sistemas semisólidos satisfacen una exigencia de las preparaciones de aplicación tópica, ya que en general, poseen buena adherencia, lo que hace que

permanezcan sobre la superficie de aplicación por un tiempo razonable hasta que se elimine por lavado (Vila, 2001).

2.4.1. Cremas.- Son formas farmacéuticas multifásicas constituidas por dos fases (Vila, 2001).

- Hidrófobas. La fase continua o externa es la fase lipófila debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo W/O.
- Hidrófilas. La fase externa es de naturaleza acuosa debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo O/W, tales como jabones sódicos o trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados y polisorbatos, a veces combinados en proporciones convenientes con emulgentes tipo W/O.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) “Marco Antonio Garrido Malo” de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de junio a noviembre del 2012.

3.2. MATERIALES

3.2.1 Población

Hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay”, que crecen en el distrito de vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.2.2 Muestra

Una cantidad de cinco kg de hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay”, fueron recolectadas durante el mes de junio del 2012 en horas de la mañana, del Centro Poblado de Anchac-Wasi del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga,

departamento de Ayacucho, ubicado a una altura de 2700 msnm. Posteriormente se certificó la especie en el Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

- DPPH(1,1-difenil-2-picrilhidrazilo hidratado).(Sigma-Aldrich)

3.3. Métodos para la recolección de datos

3.3.1. Recolección y desecación de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl. “wawillay”

Las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay” fueron recolectadas al azar, para luego ser sometidas a lavado con hipoclorito de sodio para la desinfección y eliminación de material extraño, para ser secado de manera natural en un área sombreada, ventilada y a temperatura ambiente en tendales de papel bond que se irán cambiando cada 24 horas y removiendo el vegetal para evitar su descomposición, por un periodo de siete días.

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl. “wawillay”

Luego del secado de las hojas se procedió a realizar la molienda para reducir el tamaño de las mismas, con un molino de martillo con malla de un cm aproximado hasta obtener una pulverización uniformizada, teniendo cuidado del sobre calentamiento del molino para evitar la descomposición de algunos constituyentes químicos. Se utilizó 500 g de hojas molidas para humectarla en un recipiente de vidrio con tapa con 800 ml de alcohol de 70° durante 12 horas. Transcurrido el tiempo se transfirió la muestra al percolador y maceró durante 24 horas, luego del cual se abrió la llave de salida y dejó salir el percolado a razón de 20 gotas por minuto, se recibió el percolado se filtró y se secó por atomización (Miranda y Cuéllar, 2000).

3.3.3 Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico.

Una vez obtenida el extracto hidroalcohólico, se concentró en Baño María a 40°C, para evaluar los parámetros fisicoquímicos que definen la calidad de los mismos.

a) Determinación de las características organolépticas

Color: Se tomó cantidad suficiente de muestra en un tubo de ensayo, ésta fue colocada en un fondo blanco, para determinar el tipo de color.

Olor: Una cantidad suficiente de muestra se colocó en una luna de reloj, para percibir y determinar el tipo de olor.

Aspecto: Se colocó una cantidad suficiente de muestra en una luna de reloj, para observar y determinar el aspecto de la muestra.

b) Identificación de compuestos químicos

La identificación de los diferentes compuestos químicos (metabolitos secundarios) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay" fueron realizadas siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar (2000).

c) Determinación de la solubilidad

Solubilidad en agua: Se colocó en un tubo de ensayo un mL de agua destilada, luego se añadió un gramo de muestra, se agitó fuertemente, y se observó que la muestra es muy soluble en agua.

Solubilidad en alcohol: Se colocó en un tubo de ensayo un mL de alcohol etílico de 70°C, luego se añadió un gramo de muestra, se agitó fuertemente, y se observó que la muestra es poco soluble en alcohol.

d) Determinación de pH.

El pH de la muestra se determinó utilizando el potenciómetro.

e) Determinación del contenido de humedad.

Se pesó dos gramos de la muestra de ensayo con desviación permisible de 0,5 mg y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105 °C hasta masa constante, seguidamente se desecó a 105°C durante 3 horas. La cápsula se colocó en la desecadora donde se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó, colocándose nuevamente en la estufa durante una hora, volviéndose a pesar, hasta que se obtuvo una masa constante (Miranda y Cuellar, 2000).

Cálculo:

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

Donde:

Hg = Pérdida en peso por desecación (%)

M = Masa de la cápsula vacía (g)

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

M₂ = Masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)

100 = Factor matemático.

3.3.4 Formulación y elaboración de cremas

CUADRO N° 01. Formulaciones de las cremas a ensayar

PRINCIPIO ACTIVO Y EXCIPIENTES	FÓRMULAS (%)			
	0.5%	1.0%	2.0%	BASE
Extracto hidroalcohólico "wawillay" (0.5%)	0.5			
Extracto hidroalcohólico "wawillay" (1.0%)		1.0		
Extracto hidroalcohólico "wawillay" (2.0%)			2.0	
Metilparabeno	0.0125	0.0125	0.0125	0.0125
Propilparabeno	0.0075	0.0075	0.0075	0.0075
Propilenglicol	2.0	2.0	2.0	2.0
Alcohol Cetílico	1.0	1.0	1.0	1.0
Vaselina Liquida	5.0	5.0	5.0	5.0
Lanette N	10.0	10.0	10.0	10.0
Agua purificadac.s.p.	100.0	100.0	100.0	100.0

b) Método de elaboración de cremas

Formación de la fase oleosa. Se colocó en un recipiente de acero inoxidable provista de Baño María: vaselina líquida, alcohol cetílico y lanette N, se fundió a 70 °C bajo agitación moderada.

Formación de la fase acuosa. En un recipiente adecuado de acero inoxidable provista de Baño María se cargó agua purificada y se calentó a 70 – 75 °C, luego se agregó propilenglicol, metilparabeno y propilparabeno, se agitó hasta disolución completa.

En un recipiente adecuado de vidrio se cargó agua purificada, y se agregó bajo agitación moderada extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* kraenzl “wawillay” hasta disolución completa.

Formación de la emulsión final. Una vez que los ingredientes fueron totalmente disueltos en sus respectivas fases y manteniendo las correspondientes temperaturas, se incorpora lentamente bajo agitación moderada la fase acuosa sobre la base oleosa, evitando la formación de burbujas, hasta lograr una emulsión completa.

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

La emulsión formada se caracteriza por ser fluida, se verificó el pH (entre 5,0 a 7,5). (Lab. Markos, 2004; DIGEMID, 1999).

3.3.5 Control de los parámetros fisicoquímicos y biológicos de las cremas

La formulación del producto cosmético (Comisión Europea de Cosméticos, 2006) consiste en una emulsión de aceite en agua (O/W), se realiza bajo las normativas de calidad impuestas por la industria cosmética de Farmacopea de Argentina, buenas prácticas de manufactura cosmética de la Comunidad Andina

y las normas de fabricación de medicamentos de la Comisión Europea de cosméticos. Los parámetros a ser evaluados en la forma farmacéutica semisólida elaborada son los siguientes (Mujica y Col., 2010).

Determinación de las características organolépticas

Se determinaron las características organolépticas de las cremas siguiendo los procedimientos descritos anteriormente en el párrafo de evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de "wawillay".

a) Identificación de compuestos químicos

La identificación de los diferentes compuestos químicos (metabolitos secundarios) de las cremas del extracto hidroalcohólico de las hojas de "wawillay" se realizó siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar del Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de la Habana - Cuba. (2000).

b) Determinación de pH

Para determinar el pH se siguió el método de Fiedler, se tomó cinco a diez gramos, de crema en un vaso precipitado y luego se llevó a Baño María, se fundió la muestra y se le agregó 30 mL de agua bidestilada a pH 7 calentado a 70 °C, se mezcló bien hasta formación de dos fases; se filtró la fase acuosa y se determinó el pH del filtrado (Lab. Markos, 2004).

c) Determinación del tipo o signo de emulsión

Método de dilución. En dos tubos de ensayo se colocó uno a cinco mL de emulsión, a uno de ellos se agregó cinco mL de agua y al otro cinco mL de vaselina líquida o alcohol, se mezcló y se observó.

El tubo que presentó un aspecto homogéneo indica la fase externa de la emulsión, es decir si presenta una dispersión homogénea en agua la fase

externa es acuosa (O/W) y si es homogéneo en vaselina o alcohol la fase externa es oleosa (W/O) (Lab. Markos, 2004).

d) Determinación del índice de extensibilidad

Para realizar este ensayo se utilizaron dos placas de cristal (10 X10 cm) entre las cuales se colocó una cantidad pesada del preparado (por ejemplo= 2 g), se trabajó a una variación de temperatura de ± 0.5 °C.

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

Se pesó la placa superior y se sitúa sobre la inferior. Pasado un determinado tiempo (un minuto), y por efecto de la presión, la preparación se extendió de forma aproximadamente circular.

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

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

Se representó la extensibilidad en mm^2 ($\text{Área} = \pi(d/2)^2$) frente a los pesos empleados (Lab. Markos, 2004).

3.3.6. Determinación de la actividad antioxidante

Para la búsqueda de agentes antioxidantes de radicales libres se empleó el bioensayo "in vitro" en donde el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo hidratado (DPPH), que en solución metanólica es de color violeta intenso, al ser capturado por otras sustancias (antioxidantes) pierde su color característico el mismo que fue medido por el espectrofotómetro (Szabo y Col., 2007).

Preparación del DPPH

Se pesó cinco mg de **DPPH** y se colocó en un fiola de 250 mL la cual se aforó con metanol, obteniéndose de esta manera una concentración de 50 ug/mL.

Preparación de la muestra:

De las cremas formuladas al 0,5; 1 y 2%, se pesó un gramo de cada una de ellas en un vaso de precipitado y se agregó 25 mL de metanol, se filtró y se prepararon diluciones para obtener concentraciones de 100, 50, 25 y 1 ug/mL. Una vez preparadas las diluciones se tomó de cada una de ellas tres mL y se adicionó un mL de solución de **DPPH** las cuales se agitaron vigorosamente y se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente por cinco minutos; transcurrido el tiempo se procedió a leer la absorbancia de las muestras a 517nm.

Preparación del blanco:

Se pesó un gramo de crema base en un vaso de precipitado y se la agregó 25 mL de metanol, se filtró y se hicieron diluciones para obtener concentraciones de 100, 50, 25 y 1 ug/mL. Una vez preparadas las diluciones se tomó de cada una de ellas tres mL y se adicionó un mL de solución de **DPPH**, las cuales se agitaron vigorosamente y se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente por cinco minutos, transcurrido el tiempo se procedió a leer la absorbancia de las muestras a 517nm.

Los ensayos se realizaron por triplicado para cada formulación de la crema y se empleó un total de 48 tubos de ensayo (Heberlé y Col., 2012).

La capacidad de los extractos para reducir los radicales libres se calculó según la ecuación:

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

A₁: Absorbancia del patrón de referencia

A₂: Absorbancia de la muestra

A₃: Absorbancia del blanco de la muestra

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos de la evaluación fitoquímica, control de calidad físico química se presentan en cuadros y gráficos.

Los promedios de la actividad antioxidante obtenidas por el DPPH de las cremas a diferentes concentraciones se presentan en gráficos y se realizó el análisis de varianza para identificar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) y comparaciones múltiples de Duncan.

IV. RESULTADOS

CUADRO Nº 02. Características fisicoquímicas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". Ayacucho – 2012.

CARACTERÍSTICAS	ENSAYOS	RESULTADOS
Organoléptico	Color	Marrón claro
	Olor	Sui géneris
	Sabor	Amargo
	Aspecto	resinoso
Solubilidad	Agua	Bastante Soluble
	Etanol	Poco Soluble
pH	Extracto hidroalcohólico	5,34
Humedad	Pérdida por desecación	6,75%
Cenizas	Cenizas totales	5,24%

CUADRO N° 03. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". Ayacucho – 2012.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
Catequinas	Catequinas	++	Mancha verde carmelita a luz UV
Lactonas y/o Cumarinas	Baljet	++	Coloración rojiza
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma
Flavonoides	Shinoda	++	Fase amilca de color amarillo intenso
Fenoles y/o Taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde
Quinonas	Borntrager	++	Fase acuosa alcalina color roja
Triterpenos y/o Esteroides	Liebermann-Burchard	+++	Coloración verde oscura
Azúcares reductores	Fehling	+++	Precipitado rojo

LEYENDA: (-): Ausente (+): Poco (++) : Bastante (+++) : Muy abundante

CUADRO Nº 04. Características organolépticas y pH de cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay. Ayacucho – 2012.

CARACTERÍSTICAS	ENSAYOS	FÓRMULAS	RESULTADOS
Organolépticas	Color	Crema 0.5%	Marrón claro
		Crema 1.0%	Marrón
		Crema 2.0%	Marrón oscuro
		Crema base	Blanco nieve
	Olor	Crema	<i>Suigéneris</i> a extracto
	Sabor	Crema	Amargo
	Aspecto	Crema	Homogéneo
pH	Cremas	Crema base	6.93
		Crema 0.5%	6.04
		Crema 1.0%	5.90
		Crema 2.0%	5.30

CUADRO N° 05. Metabolitos secundarios presentes en las cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". Ayacucho –2012.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYOS	RESULTADOS	
		CREMAS	OBSERVACIONES
Azúcares reductores	Fehling	+++	Precipitado rojo
Catequinas	Catequinas	++	Mancha verde carmelita a luz UV
Flavonoides	Shinoda	++	Fase amilica de color amarillo intenso
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde
Quinonas	Borntrager	++	Fase acuosa alcalina color roja
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann- Burchard	+++	Interfase color rojizo

LEYENDA:(-) : Ausente(+): Escasa(++): Buena(+++): Excelente

CUADRO N° 06. Métodos para determinar el tipo de emulsión de las cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay”. Ayacucho –2012.

MÉTODOS	SOLVENTE	RESULTADOS
Dilución	Agua purificada	Homogéneo Soluble (Emulsión O/W)
	Alcohol etílico	Heterogéneo Insoluble
Colorantes	Solución de azul de metileno	Fase externa color azul Fase interna incolora (Emulsión O/W)
	Solución de Sudan III	Fase externa incolora Fase interna color rojo

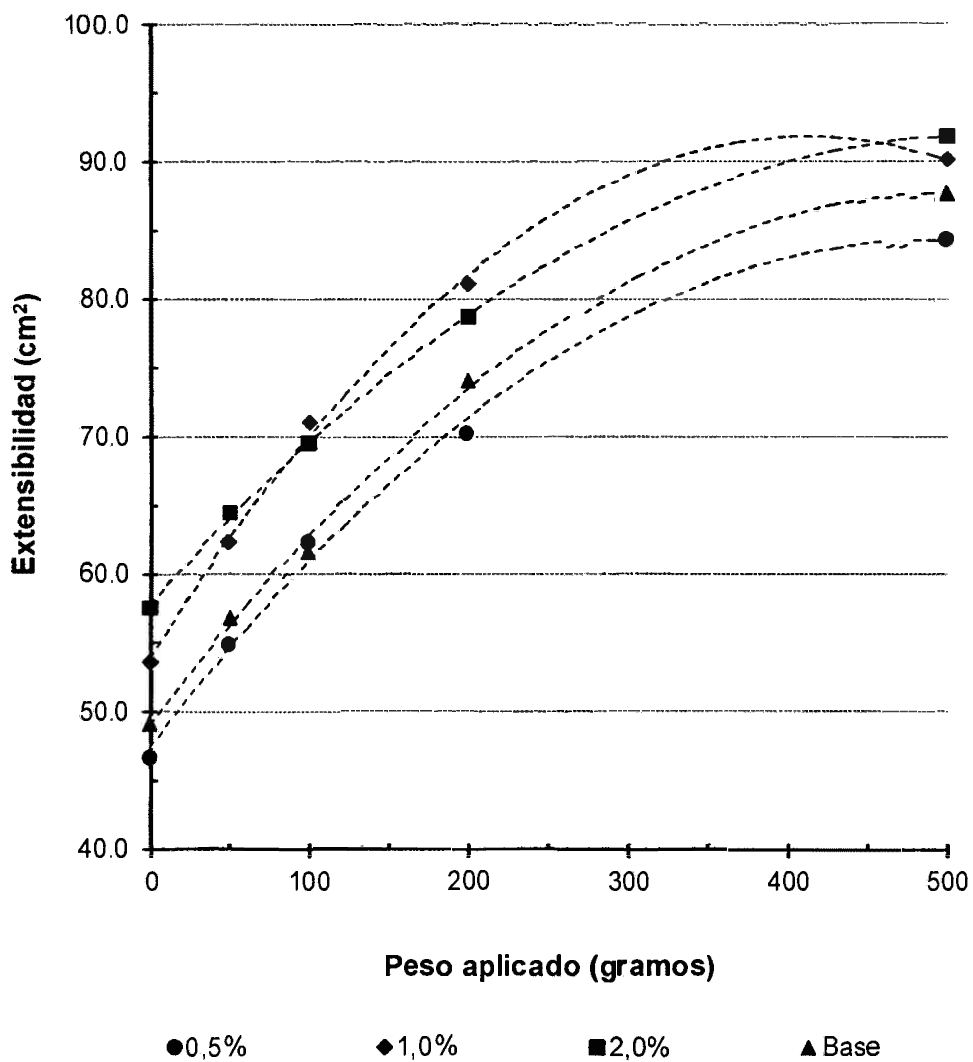


GRÁFICO Nº 01. Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado a las cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". Ayacucho - 2012.

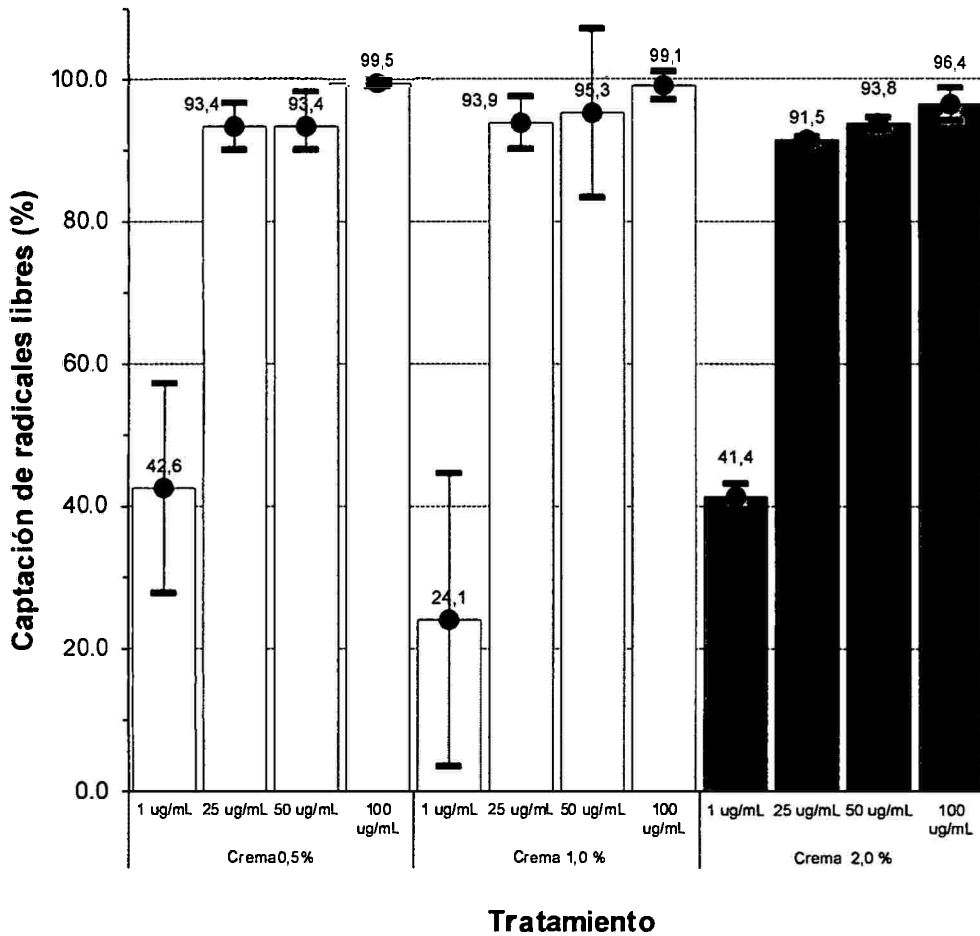


GRÁFICO N° 02. Actividad antioxidante por captación de radicales de las cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". Ayacucho – 2012.

CUADRO Nº 07. Comparaciones múltiples de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de las cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". Ayacucho – 2012.

Tratamientos	N	Subconjuntos homogéneos			
		1	2	3	4
Crema 1,0% - 1ug/mL	3	24,10			
Crema 2,0% - 1ug/mL	3		41,40		
Crema 0,5% - 1ug/mL	3		42,56		
Crema 2,0% - 25ug/mL	3			91,45	
Crema 0,5% - 100ug/mL	3			91,86	
Crema 0,5% - 50ug/mL	3			93,38	93,38
Crema 2,0% - 50ug/mL	3			93,76	93,76
Crema 1,0% - 100ug/mL	3			93,88	93,88
Crema 1,0% - 50ug/mL	3			95,28	95,28
Crema 2,0% - 100ug/mL	3			96,45	96,45
Crema 1,0% - 25ug/mL	3				99,10
Crema 0,5% - 25ug/mL	3				99,46
Sig.		1,000	,680	,129	,067

CUADRO N° 08. Resultados de análisis de varianza para el diseño de bloques (concentración de las diluciones), completamente aleatorizados de los porcentajes de inhibición de radicales libres por efecto de las cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". Ayacucho – 2012.

Fuente	SC	g.l.	CM	R.V.
Tratamientos	29,52	2,00	14,76	0,37
Bloques	7828,15	3,00	2609,38	
Residuo	237,95	6,00	39,66	
Total	8095,63	11,00		

V. DISCUSIÓN

Los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico que muestra el Cuadro N° 01, presentan características organolépticas como un olor sui géneris, sabor amargo y polvo fino homogéneo, esto específico para el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". El extracto hidroalcohólico fue bastante soluble en agua, poco soluble en alcohol, con un pH de 5,34 ligeramente ácido. El porcentaje de sustancias solubles fue de 20,97% y las cenizas totales fue de 5,24%.

El Cuadro N° 02 muestra los compuestos químicos identificados del extracto hidroalcohólico, presentando: azúcares reductores, catequinas, cumarinas, saponinas, flavonoides, fenoles, taninos, antocianidinas, quinonas, triterpenos y esteroides; responsables del efecto farmacológico, resultados que concuerdan con lo obtenido por Lastra y Yañez (2004), donde se determinó la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas y taninos en el extracto seco hidroalcohólico de *Calceolaria myriophylla*. Así mismo en el Cuadro N° 04, se reportan los resultados de la identificación de metabolitos secundarios presentes en las cremas elaboradas con el extracto a diferentes concentraciones con el

que se confirma que en el proceso de desarrollo de la crema no se pierden los metabolitos secundarios que tienen actividad antioxidante como los flavonoides, taninos, diterpenos, fenoles y naftoquinonas. Gorduza y Col., (2000), y Kuskoski y Col., (2005). Las cremas presentan una buena característica organoléptica, pH cercanos a la piel, y compatibilidad del extracto hidroalcohólico del "wawillay" con los excipientes (Castro, 1973).

El Cuadro N° 03, presenta los resultados de las características organolépticas de las cremas; en ella se aprecia que el color de las cremas dependen de la concentración de extracto hidroalcohólico del "wawillay", la crema base es de un color blanco nieve, la crema al 0,5% color marrón claro, la crema 1,0% color marrón y la crema 2,0% color marrón oscuro. Las cremas tienen un olor sui géneris característico del extracto hidroalcohólico del "wawillay", debido a la presencia de la vaselina líquida y el alcohol cetílico, presentó un sabor ligeramente amargo. Esta forma farmacéutica semisólida presentó un aspecto homogéneo lo que demostró su buena estabilidad.

En el mismo cuadro se muestran los resultados del pH de las cremas; la crema base tiene un pH de 6,93 ligeramente ácido, crema 0,5% un pH de 6,03 ácida, crema 1,0% un pH de 5,90 ácida y crema 2,0% un pH de 5,30 muy ácida. El ungüento hidrófilo denominado también crema de emulsión O/W aniónicas fueron inestables a un pH inferior a cinco como describe Fernández (1988), por tanto el pH de las cremas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* están dentro de las especificaciones que oscilan entre 5 a 7,5; tal como menciona en sus procedimientos el Laboratorio Farmacéutico Markos (2004). Es necesario tener en cuenta el pH de la piel que oscila entre 4,85 para los hombres y 5 para las mujeres como menciona Orlandi (2004), cuando el pH de la superficie fue más alcalino, se produjo prurito y dermatitis de carácter

inespecífico, las que se evitan con la formulación de cremas con pH cercano a la piel, por tanto la crema 2% se asemejó al pH de la piel.

En el Cuadro N° 05, se reporta el tipo de emulsión de las cremas, las cuáles son homogéneas en agua y heterogéneas en alcohol etílico, comprobando que es una emulsión O/W, lo que se verificó cuando se probó con Azul de Metileno y Sudan III. Las cremas en estudio según Vila (2001) y Gennaro (2003) se les denomina emulsiones O/W, formas farmacéuticas constituidas por dos fases, una lipófila y otra acuosa, debido a que la fase externa es de naturaleza acuosa por la presencia en su composición de emulsificantes tipo O/W, en este caso la cera Lanette N. Por tanto hay una necesidad de ser evaluada si la forma farmacéutica semisólida en estudio corresponde a lo descrito anteriormente, el Cuadro N° 05 presenta dos métodos para determinar el tipo de emulsión; según el método por dilución las cremas en estudio son solubles en agua y presentan un aspecto homogéneo, es decir si presenta una dispersión homogénea en agua la fase externa es acuosa, decimos entonces que es una emulsión O/W. Por el otro método de los colorantes, el Cuadro N° 05 nos muestra que al adicionar azul de metileno la fase externa es de color azul, es decir todo el campo se colorea uniformemente con algunos puntos refringentes, debido a que el azul de metileno es hidrosoluble. Y al adicionar el Sudan III se observa puntos de color rojo y el resto del campo incoloro, esto debido a que el Sudan III es liposoluble. Por tanto decimos que las cremas son emulsiones O/W.

En el Gráfico 01, se presentan los resultados de la prueba de extensibilidad de las cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico del "wawillay". En un estudio de formulación de formas farmacéuticas semisólidas es necesario evaluar el comportamiento reológico debido a que las propiedades reológicas tienen una gran influencia en la estabilidad y en la textura de los mismos como

menciona Signorelli (2005), en este estudio se consideran el índice de extensibilidad que proporciona una medida del umbral de deformación del sistema. Podemos observar que la extensibilidad es aproximadamente proporcional al peso aplicado (a mayor peso mayor extensibilidad), llegando a un punto donde al aplicar mayor peso la extensibilidad es constante. El Gráfico 01 muestra que la crema al 2,0% tiene mayor extensibilidad aplicando 500 g de peso, igual a $72,43 \pm 5,95 \text{ cm}^2$, seguido de la crema 1,0% con $71,64 \pm 6,50 \text{ cm}^2$, crema al 0,5% con $63,71 \pm 6,47 \text{ cm}^2$ y la crema base con $65,87 \pm 6,78 \text{ cm}^2$, estos comportamientos puede ser debido a que las cuatro formulaciones tienen diferentes cantidades de agua.

El método utilizado para determinar la actividad antioxidante fue de decoloración del radical DPPH, que nos da confianza y seguridad en los resultados, ya que es un radical estable y estandarizado (Szabo y Col., 2007). Para demostrar la actividad antioxidante se trabajó con cremas a concentraciones de 0,5%; 0,1% y 2% elaboradas a partir del extracto hidroalcohólico de "wawillay", las cuales fueron preparadas a diferentes diluciones para obtener concentraciones de 1 ug/mL, 25 ug/mL, 50 ug/mL y 100 ug/mL (Heberlé y Col., 2012).

De los resultados obtenidos, se muestra que la crema al 0,5% a la concentración de 100 ug/mL presenta mayor porcentaje de inhibición de radicales libres ($99,46 \pm 0,11$), respecto a las cremas al 1,0% y 2,0% que presentaron porcentajes de $99,10 \pm 0,46\%$ y $96,45 \pm 0,53\%$ respectivamente. De igual manera, se observa en las concentraciones de 50, 25 y 1 ug/mL. Sin embargo, dichos valores son estadísticamente similares ($p > 0,05$), tal como se observa en el Cuadro N° 07 resultados de análisis de varianza para el diseño de bloques completamente aleatorizados de los porcentajes de inhibición de radicales libres.

En el Gráfico N° 03, se presentan los porcentajes de inhibición de captación de radicales libres de la crema al 0,5%. Se observa que la crema al 0,5% a la concentración de 100 ug/mL ($99,46 \pm 0,11$) presenta mayor porcentaje de inhibición respecto a las concentraciones de 50, 25, y 1,0 ug/mL ($93,38 \pm 0,76\%$; $91,83 \pm 1,49\%$ y $42,46 \pm 3,43\%$ respectivamente); siendo esta variación dependiente de la concentración. Sin embargo, al realizar las comparaciones múltiples (Anexo N° 06) las concentraciones al 100 ug/mL y 50 ug/mL son estadísticamente similares ($p > 0,05$); asimismo la concentración al 50 ug/mL y 25 ug/mL también son estadísticamente similares ($p > 0,05$).

En el Gráfico N° 04, se presentan los porcentajes de inhibición de captación de radicales libres de la crema al 1,0%. Se observa que la crema al 1,0% a la concentración de 100 ug/mL ($99,10 \pm 0,46$) presenta mayor porcentaje de inhibición respecto a las concentraciones de 50, 25, y 1,0 ug/mL ($95,28 \pm 2,76\%$; $93,88 \pm 0,86\%$ y $24,10 \pm 4,78\%$ respectivamente); siendo también esta variación dependiente de la concentración. Asimismo, al realizar las comparaciones múltiples (Anexo N° 07) las concentraciones al 100 ug/mL, 50 ug/mL y 25 ug/mL son estadísticamente similares ($p > 0,05$).

En el Gráfico N° 05, se presentan los porcentajes de inhibición de captación de radicales libres de la crema al 0,5%. Se observa que la crema al 2,0% a la concentración de 100 ug/mL ($96,45 \pm 0,53$) presenta mayor porcentaje de inhibición respecto a las concentraciones de 50, 25, y 1,0 ug/mL ($93,95 \pm 0,19\%$; $91,48 \pm 0,08\%$ y $41,46 \pm 0,42\%$ respectivamente); siendo esta variación dependiente de la concentración. Lo cual se corrobora al realizar las comparaciones múltiples (Anexo N° 08), donde todas las diluciones de la crema al 2,0% presentan porcentajes de inhibición de captación de radicales libres estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl contiene metabolitos secundarios que actúan en la neutralización de los radicales libres, como los flavonoides, catequinas y taninos.

Los flavonoides y taninos principalmente presentan actividad antioxidante, pero principalmente a los flavonoides se les atribuye actividad antioxidante de acuerdo a los reportes de Gorduza y Col., (2000), y Kuskoski y Col., (2004). Estos flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, que les confiere una gran capacidad antioxidante, desempeñando un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis y el cáncer

Considerando que los radicales libres tienen vida media corta, en el presente estudio se midió la absorbancia a los cinco minutos, en concordancia con los trabajos de Lebeau y Col, 2000; quienes trabajaron a partir de los cinco minutos. Asimismo, Neyra y Yuri, (2004) al evaluar la capacidad antioxidante de la manzana, consideró un tiempo de incubación de ocho minutos dado que en la evaluación antioxidante de un compuesto, no sólo reviste importancia la estructura química y la concentración, sino también el tipo de productos de reacción, formados. Los resultados se expresan en porcentaje, observándose una relación directa en la mayoría de los casos entre la concentración y la capacidad antioxidante de la planta en estudio.

Gonzales y Col.,(2001), reportan en su trabajo de investigación la acción fotoprotectora de los taninos condensados de diferentes especies forestales en bacterias (*E. coli*), en los resultados observaron que los taninos de todas las especies vegetales eran capaces de proteger a las bacterias contra el daño de

las radiaciones ultravioletas, lo que coincide con una buena actividad antioxidante y antielastasa.

Casanova (2004), evaluó la actividad antioxidante del extracto acuoso liofilizado de *Calceolaria cuneiformes* y reporta una buena actividad con un porcentaje de 86,90% de inhibición del DPPH al tratamiento de 125 ug/mL, al realizar las comparaciones se obtiene que el extracto en estudio tiene un mejor efecto antioxidante, por tanto podemos asumir que el contenido de metabolitos secundarios es mucho mayor.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay" tiene color marrón claro, olor sui géneris, sabor amargo, aspecto homogéneo, bastante soluble en agua, pH ácido, 5,34% de humedad, 20,97% y 5,24% de cenizas totales.
2. Los metabolitos secundarios identificados en el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay" fueron: flavonoides, taninos, fenoles, naftoquinonas, azúcares reductores, catequinas, quinonas, triterpenos y esteroides.
3. Las cremas de 0,5%; 1,0% y 2,0% presentan un color que depende de la concentración del extracto, pH de 6,04; 5,90 y 5,30 cercanos a la piel, son de emulsión OW, y presentan una alta extensibilidad.
4. Se determinó que las cremas formuladas al 0,5; 1,0 y 2,0%; presentan elevada actividad antioxidante (99,46 – 91,48%), siendo estas estadísticamente similares hecho que se comprueba al realizar el análisis de varianza.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar el aislamiento de los metabolitos que se encuentran presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay", responsables de la actividad antioxidante.
2. Realizar el estudio de estabilidad de cremas O/W elaborados a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay" a una concentración de un 2,0 % y su posterior estudio clínico.
3. Realizar nuevas formulaciones farmacéuticas como ungüentos, geles que ayuden en la prevención y cuidado de la piel porque la planta presenta una buena actividad antioxidante.

VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aedes.** 1998. Estudio de la biodiversidad vegetal y animal, cuenca de Cotahuasi: flora medicinal. Consejo Provincial de la Unión, Secretaria Técnica La unión Arequipa-Perú.
2. **Blanco M.** 2011. Elaboración de productos con plantas de uso medicinal Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro U. L.- México.
3. **Brack A.**1999. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú, Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas, Cuzco-Perú.
4. **Cabrera A.**1993. Flora de la provincia de Jujuy. Colección Científica. INTAXIII (9):1-560
5. **Casanova G.**2004. Actividad antioxidante y antiulcerosa del extracto liofilizado de *Calceolaria cuneiformes* "ayapa zapatum". Tesis en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH.
6. **Castañeda C, Ramos E, Ibañez V.** 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Revista Horizonte Medico. Volumen 8, N° 1.
7. **Castro A.** 1973. Control de calidad mínimo de los productos cosméticos. Revista de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela. Volumen 26. Caracas. Venezuela. s/n.
8. **Comisión Europea de Cosméticos.** 2006. Página web en línea. Recuperada el 5 de marzo de 2008 en: <http://europa.eu.int/>.
9. **Condorhuamán Y.** 2009. Efecto hipotensor del extracto acuoso de *Calceolaria myriophylla* Kraenzl en ratas hipertensas inducidas por L-NAME Tesis para optar al grado académico de Magíster en Farmacología. UNMSM. Lima.
10. **Del Castillo J.** 2002. Actividad hipoglicemiante y toxicidad del extracto acuoso liofilizado de *Calceolaria engleriana* Kranzlin "ayazapato". Tesis en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH.
11. **DIGEMID.** 1999. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos. Dirección General de Medicamentos Insumos y

Drogas - Ministerio de Salud. Resolución Ministerial N° 055-99.SA/DM Lima.

12. **Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.** 1988. 5ª Edición. Dirección General de Control de Insumos para la Salud – Secretaria de Salud. México.
13. **Fernández E.** 1988. Manual de Formulación Magistral Dermatológica Editorial E. Alía. Madrid.
14. **Gennaro A.** 2003. Remington Farmacia Tomo 2. 20ª Edición. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires.
15. **Gilca M, Stoian I, Atanasiu V, Virgolici B.** 2007. The oxidative hypothesis of senescence. J Postgrad – Med 53:207-13.
16. **González Y, Peña M, Sánchez R, Santana L.** 2001. Taninos de diferentes especies vegetales en la prevención del foto envejecimiento. Rev Cubana Invest Bioméd v.20 n.1 Ciudad de la Habana Ene.-Mar.
17. **Gorduza V, Tarabasanu C, Gorduza A, Cernatescu C, Rusu M.** 2000. Structure-reactivity relationships of antioxidant flavonoides. Ovidius University Annals of Chemistry. 11 (1): 56-59.
18. **Heberlé G, Araújo M, Magri S.** 2012. Cosmetic formulations containing blueberry extracts (*vaccinium myrtillus*). Center for Biological and Health Sciences – Univates – Rs-Brazil, Joan Vernikos Aerospace Pharmacy Laboratory -Microgravity Centre – Pucrs - Brazil January, Volume 2, Issue 1.
19. **Khambay B, Batty D, Cahill M, Denholm I.** 1999. Isolation, characterization, and biological activity of naphthoquinones from *Calceolaria andina* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47:770-775.
20. **Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Manzini-Filho J, Fett R.** 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc. Tecnol. Aliment. 25(4):726-732.
21. **Lastra Y, Yáñez B.** 2004. Efecto Gastroprotector de *Gamochaeta americana* (Mili) Wedell (Keto Keto) y *Calceolaria myriophylla* Kraenz (Ayaq Zapatilla) sobre Lesiones Gástricas Inducidas por indometacina en

- Ratas. Tesis para Optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico. Cusco –Perú. Facultad de Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.
22. **Laboratorios Farmacéuticos Markos.** 2004. Procedimiento de Operación Estándar; Fabricación de Productos semisólidos No Estériles. Lima.
 23. **Lebeau J, Furman C, Bernier JL, Duriez P, Teissier E. Cotelle.** 2000. Antioxidants properties of di-terbutylhydroxylated flavonoids, Freeradic. Biol. Med. 29(9):900-912.
 24. **Lock de Ugaz O.** 1994. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.
 25. **Miranda M, Cuellar A.** 2000. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana. La Habana.
 26. **Molau U.**1988. Flora Neotrópica. Monograph Nº 47 Scrophulariaceae. Part I. Calceolariaceae, The New York Botanical Garden. New York- USA.
 27. **Mujica V, Delgado M, Ramírez M, Velásquez I, Pérez K, Rodríguez-Corella, M.** 2010. Formulación de un producto cosmético con propiedades antiarrugas a partir del aceite de semilla de merey (*Anacardium Occidentale L*). Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela V.25 n.2.
 28. **Neira A, Yuri J.** 2004.El valor nutritivo de la fruta. Boletín Técnico. POMACEAS. Universidad de Talca. Vol. 4. No 4.
 29. **Orlandi M.** 2004. Piel Sana y Manto ácido. Folia Dermatológica del Perú 15(2): 121 – 124. Lima.
 30. **Pérez R.** 2012. Actividad antitusiva del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Calceolaria engleriana kraenzl* “wawiyay”. Tesis en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH.
 31. **Puppo P.** 2006. Genus *Calceolaria* (Calceolariae) in Lima department, Perú. *Rev Peru. Biol.* 13 (1): 085-093 (octubre).

32. **Romero M, Magallanes C, Aguilar E, Alarcón J.** 2009. Estudio del Género *Calceolaria* en la provincia de Huamanga: Aspectos botánicos, fitoquímicos, antibacterianos y producción. Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH .Ayacucho – Perú.
33. **Silva P, Chamy M, Piovano M, Garbarino G.**1993. Diterpenoids from *Calceolaria petiolaris* *Phytochemistry* .Vol. 34 N° 2 pp.449 – 451.
34. **Signorelli I, Isla M.** 2005. Elaboración de una Crema para uso Tópico a base de *Urtica dioica* L. *Revista de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis*. Vol. 47 (2) Universidad de los Andes. Mérida –Venezuela.
35. **Szabo M, Iditoiu C, Chambre D, Lupea A.** 2007. Improved DPPH Determination for Antioxidant Activity *Spectrophotometric Assay*. *Chem Pap*. 61 (3): 214-216.
36. **Vila J.** 2001. *Tecnología Farmacéutica*. Volumen II (Formas Farmacéuticas). 1ra Reimpresión. Edit. Síntesis S.A. Madrid.
37. **Zamora J.** 2007. Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición* Vol.34, nro.001, Santiago de Chile.
38. **Zavaleta J, Muñoz A, Blanco T, Alvarado-Ortiz C, Loja B.** 2005. Capacidad Antioxidantes y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Revista Horizonte Médico*. 2(5):29-38.

ANEXOS

ANEXO N° 01

Clasificación Taxonómica de *Calceolaria engleriana* Kraenzl



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

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Diana Carolina, DEL SOLAR CÁRDENAS, 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
SUBCLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SCROPHULARIALES
FAMILIA	:	SCROPHULARIACEAE
GENERO	:	Calceolaria
ESPECIE	:	<i>Calceolaria engleriana</i> . Kraenzl.
N.V.	:	"wawilay"

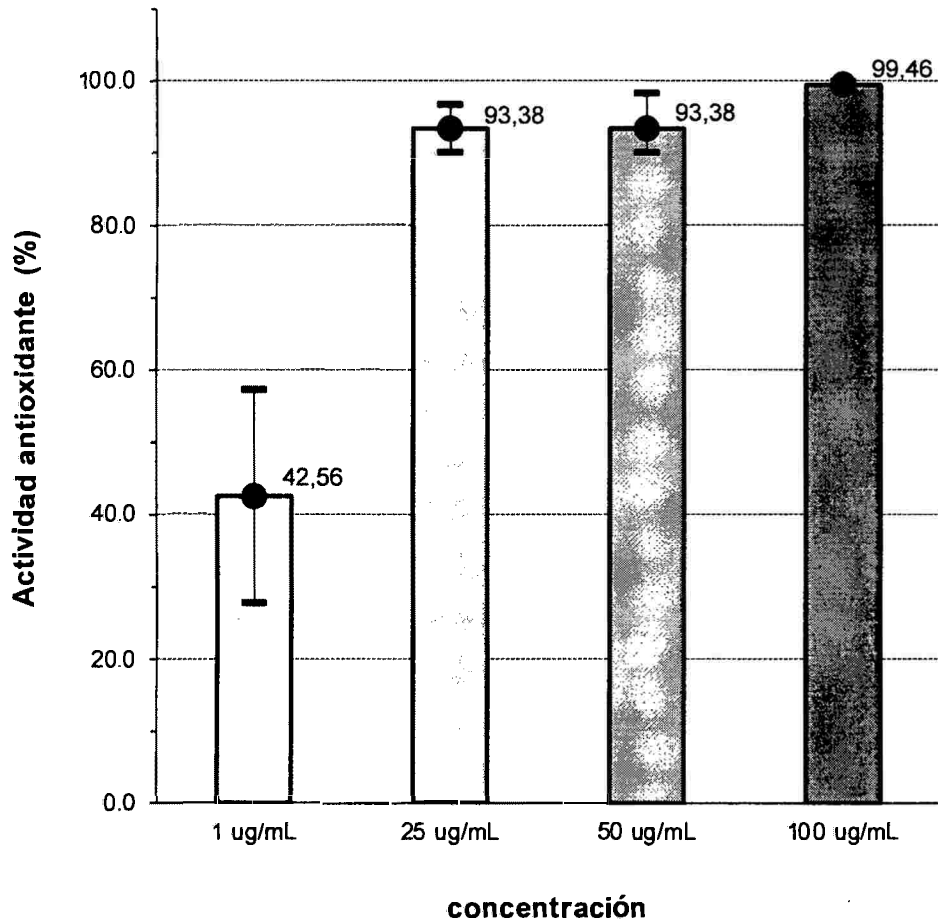
Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 07 de Setiembre del 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS
[Firma]
Dña. Laura Susana S. Torres
JSPB

ANEXO N° 02

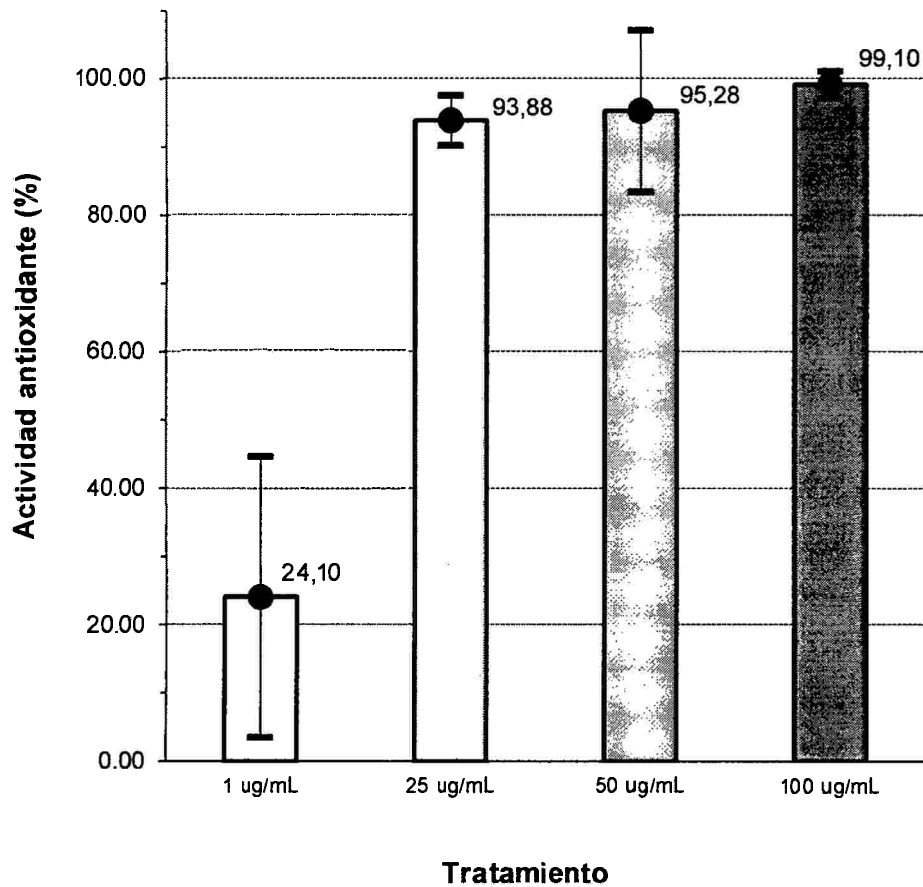
Actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema al 0,5% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl. Ayacucho – 2012.



ANVA: $p < 1,55 \times 10^{-7}$

ANEXO N° 03

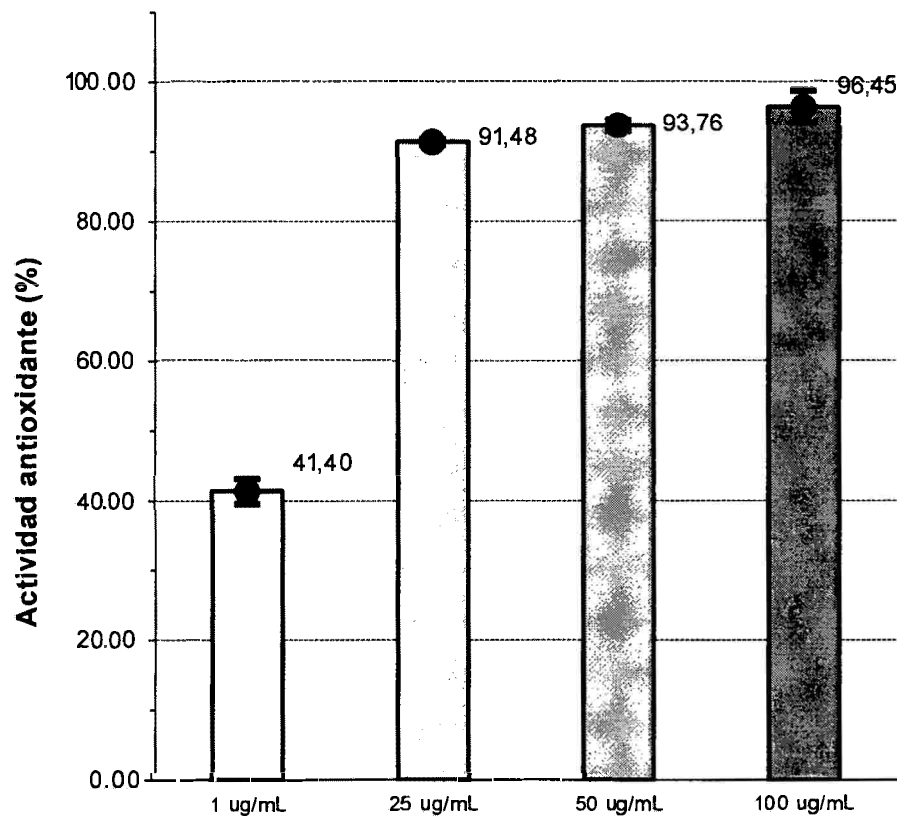
Actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema al 1,0% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl. Ayacucho – 2012.



ANVA: $p < 1,27 \times 10^{-7}$

ANEXO N° 04

Actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema al 2,0% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl. Ayacucho –2012.



Tratamiento

ANVA: $p < 1,47 \times 10^{-12}$

ANEXO N° 05

Datos descriptivos de índice de extensibilidad de las cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl. Ayacucho – 2012.

Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Limite de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite inferior	Limite superior		
Base	5	65,87	15,16	6,78	47,05	84,69	49,13	87,62
Crema 0,5%	5	63,71	14,48	6,47	45,74	81,69	46,68	84,33
Crema 1,0%	5	71,64	14,53	6,50	53,61	89,68	53,58	90,13
Crema 2%	5	72,43	13,31	5,95	55,90	88,95	57,55	91,82
Total	20	68,41	13,74	3,07	61,98	74,84	46,68	91,82

ANEXO N° 06

Datos descriptivos de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema al 0.5% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl. Ayacucho – 2012.

Tratamientos	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite inferior	Limite superior		
1 ug/mL	3	42,56	5,94	3,43	27,81	57,31	36,16	47,88
25ug/mL	3	91,86	2,59	1,49	85,43	98,28	88,93	93,81
50 ug/mL	3	93,38	1,32	0,76	90,11	96,65	92,18	94,79
100ug/mL	3	99,46	0,19	0,11	98,99	99,92	99,35	99,67
Total	12	81,81	24,02	6,93	66,55	97,08	36,16	99,67

ANEXO N° 07

Datos descriptivos de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema al 1.0% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl. Ayacucho – 2012.

Tratamientos	N	Media	Desviación estándar	Error Stándar	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite Inferior	Límite Superior		
1 ug/mL	24,10	8,29	4,78	3,51	44,68	15,66	32,23	24,10
100 ug/mL	93,88	1,49	0,86	90,18	97,57	92,17	94,88	93,88
50 ug/mL	95,28	4,78	2,76	83,40	107,17	89,76	98,19	95,28
25 ug/mL	99,10	0,80	0,46	97,12	101,08	98,19	99,70	99,10
Total	78,09	32,88	9,49	57,20	98,98	15,66	99,70	78,09

ANEXO N° 08

Datos descriptivos de la actividad antioxidante por captación de radicales libres de la crema al 2.0% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl. Ayacucho – 2012.

Tratamientos	N	Media	Desviación Estándar	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite Inferior	Límite Superior		
1 ug/mL	3	41,40	0,73	0,42	39,60	43,20	40,63	42,07
25 ug/mL	3	91,48	0,15	0,08	91,12	91,85	91,35	91,64
50 ug/mL	3	93,76	0,33	0,19	92,93	94,58	93,37	93,95
100 ug/mL	3	96,45	0,93	0,53	94,14	98,75	95,39	97,12
Total	12	80,77	23,82	6,88	65,64	95,90	40,63	97,12

ANEXO N° 09

Recolección y prensado de la planta entera procedente del distrito de Vinchos departamento de Ayacucho.



ANEXO N° 10

Lavado y secado de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay", para la obtención del extracto.



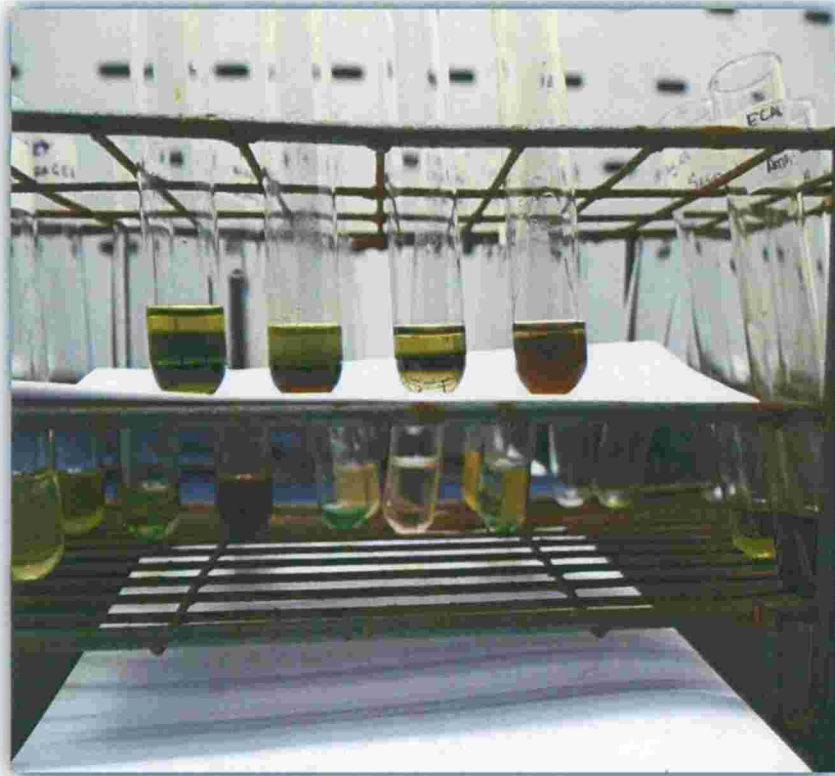
ANEXO N° 11

Extracto concentrado de las hojas de *Calceolaria engleriana*
Kraenzl "wawillay".



ANEXO N° 12

Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay".



ANEXO N° 13

Elaboración de cremas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay"



ANEXO N° 14

Cremas formuladas a las concentraciones de 0,5; 1 y 2% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay".



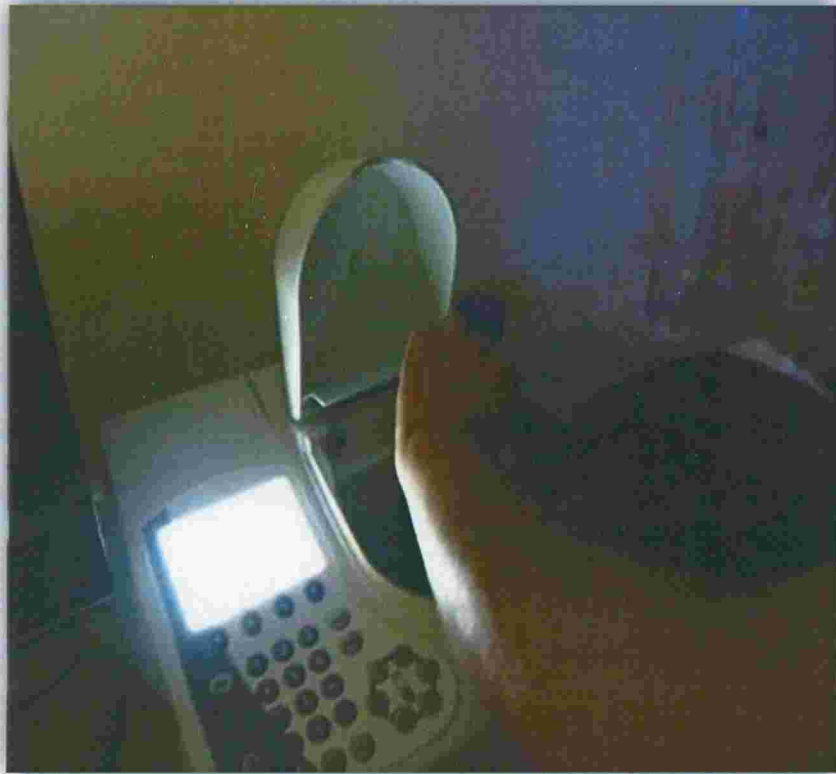
ANEXO N° 15

Preparación y dilución de las cremas a diferentes concentraciones para su lectura en el espectrofotómetro.



ANEXO N° 16

Determinación de la actividad antioxidante de las cremas elaborados a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay".



ANEXO N° 17

Cálculos realizados para obtener concentraciones de las cremas elaboradas al 1, 25, 50 y 100 ug/mL.

Crema al 0.5 %

1,5 g de crema → 25 mL de MeOH

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

1 ug/mL → 0,1mL de solución Madre + 10 mL de MeOH

25 ug/mL → 2,5 mL de solución Madre + 10 mL de MeOH

50 ug/mL → 5 mL de solución Madre +10 mL de MeOH

100 ug/mL → 0,75 mL de solución Madre+ 10 mL de MeOH

Crema al 1.0 %

1,5 g de crema → 25 mL de MeOH

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

1 ug/mL → 0,05 mL de solución Madre+ 10 mL de MeOH

25 ug/mL → 1,25 mL de solución Madre + 10 mL de MeOH

50 ug/mL → 2,5 mL de solución Madre +10 mL de MeOH

100 ug/mL → 5 mL de solución Madre + 10 mL de MeOH

Crema al 2.0 %

1,125g de crema → 25 mL de MeOH

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

1 ug/mL → 0,033 mL de solución Madre + 10 mL de MeOH

25 ug/mL → 0,83 mL de solución Madre+ 10 mL de MeOH

50 ug/mL → 1,67 mL de solución Madre+ 10 mL de MeOH

100 ug/mL → 3,33 mL de solución Madre + 10 mL de MeOH

**ANEXO N° 18
MATRIZ DE CONSISTENCIA**

TITULO: Actividad antioxidante de la crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engeliana* Kraenzl "wawillay".
Personal Investigador: Del solar Cárdenas, Diana Carolina.

Título	Problema	Objetivos	Marco Teórico	Hipótesis	Variabes	Metodología
Actividad antioxidante de la crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Calceolaria engeliana</i> Kraenzl "Wawillay", Ayacucho - 2012.	¿Tendrá actividad antioxidante la crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Calceolaria engeliana</i> Kraenzl "wawillay"?	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> > Evaluar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Calceolaria engeliana</i> "wawillay" <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> > Evaluar los parámetros físico químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Calceolaria engeliana</i>. > Determinar a qué concentración la crema del extracto hidroalcohólico presenta mejor actividad antioxidante. > realizar la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>calceolaria engeliana</i> > evaluación de las características organolépticas para la formulación de la crema 	<p><i>Calceolaria engeliana</i> Kraenzl "wawillay" es una especie medicinal nativa tradicionalmente utilizada como aromatizante y para problemas gastrointestinales Romero y col (2009), posee propiedades antioxidantes (Casanova2002), hipoglicemiantes (Del castillo 2004), reporta la presencia de flavonoides triterpenos, esteroides y taninos por lo que es menester caracterizarlos y evaluar sus propiedades farmacológicas. Los antioxidantes son un grupo de moléculas reconocida por sus capacidad para neutralizar los radicales libres, estas sustancias han surgido como una alternativa para combatir las deficiencias asociadas al estrés oxidativo (López y Echeverri. 2007). Entre los flavonoides que presentan actividad antioxidante tenemos la quercetina, rutina, flavonol y la luteolina, varias investigaciones han demostrado que la mayor actividad antioxidante se logra al trabajar con flavonoides libres con 3 grupos hidroxilo en el anillo B (Charles y col, 1996)</p>	<p>Tiene actividad antioxidante la crema formulada del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Calceolaria engeliana</i> Kraenzl "wawillay"</p>	<p>Variable independiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> 1.-Crema elaborada a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Calceolaria engeliana</i> Kraenzl "wawillay". <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Crema elaborada al 0,5% • Crema elaborada al 1,0% • Crema elaborada al 2,0% <p>Variable dependiente</p> <ul style="list-style-type: none"> • Actividad antioxidante de la crema elaborada a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Calceolaria engeliana</i> Kraenzl "wawillay" <p>Indicador:</p> <p>%de captación del Radical libre.</p>	<p>Tipo de Investigación: Explicativo. diseño experimental</p> <p>Población: La población estará constituida por la especie <i>Calceolaria engeliana</i> Kraenzl "Wawillay" que crece en el Distrito de Vinchos, Provincia de Huamanga, Región Ayacucho.</p> <p>Muestra: 5 kilos de hojas, colectadas y secadas adecuadamente a partir de los cuales se realizará el extracto etanólico, siguiendo las recomendaciones para estos casos.</p> <p>Metodología: Actividad secuestradora del radical 1,1-difenil-2-picrilhidraziloyla que es destruido solamente por antioxidantes.</p> $\%DPPH_{inhibición} = \frac{(A_{control} - A_{muestra})}{(A_{control})} \times 100$

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D Nº 497 – 2012– FCB– D

Bach. DIANA CAROLINA DEL SOLAR CARDENAS.

En la ciudad de Ayacucho, siendo las diez de la mañana del día veintinueve de diciembre del año dos mil doce en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presencia del Doctor Tomás Castro Carranza en su condición de Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas y con la asistencia de los docentes miembros: Magister Maricela López Sierralta, quien además actuara como secretaria docente; Magister Marco Rolando Aronés Jara (Asesor) y Magister Emilio German Ramírez Roca (Cuarto Jurado Calificador), para recepcionar la tesis titulada: Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana Kraenzl* "wawillay". Ayacucho – 2012, presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Srta. DIANA CAROLINA DEL SOLAR CARDENAS, quien pretende optar el título profesional de Químico farmacéutica.

El decano inició el acto de sustentación indicando a la expositora que cuenta para la disertación del trabajo de investigación con un tiempo no mayor de cuarenta y cinco minutos luego del cual los miembros del jurado calificador realizaran las observaciones, aclaraciones y preguntas que crean necesarias para la evaluación correspondiente, luego del cual el decano solicita, a la sustentante y al público en general que abandonen el auditorio dejando solo al jurado calificador, para que puedan deliberar y emitir su calificación como sigue:

JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg Maricela López Sierralta	17	17	17
Mg Marco Rolando Aronés Jara	18	18	18
Mg Emilio German Ramírez Roca	17	17	17

PROMEDIO TOTAL.17

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, el sustentante obtuvo la nota promedio de diecisiete (17) de lo cual dan fe los miembros del jurado, estampando su firma al pie de lo presente. Culmino el acto de la sustentación siendo las doce y treinta del día.



Dr. Tomás CASTRO CARRANZA
Presidente



Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA
Secretaría Docente - Miembro



Mg. Emilio RAMÍREZ ROCA
Miembro – Cuarto Jurado Calificador



Mg. Marco ARONÉS JARA
Miembro - Asesor