

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

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



**Efecto antioxidante y hepatoprotector del extracto
hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides*
"quimsa cuchu". Ayacucho – 2008**

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

PRESENTADO POR

Bach. Yeleni Ketty COLLAZOS MEDRANO

AYACUCHO-PERÚ

2009

Dedicatoria:

*A mi familia, en especial a mi madre
Volanda Medrano, a mi abuelita Remigia
Aronés y mi tía Vilma Medrano quienes
me dedican parte de su vida para ser una
mujer de bien.*

*A Dios y a mi padre Alejandro Medrano
Flores por iluminar mi sendero y ser mi
fuerza a seguir adelante.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por ampliar mi visión y mi ideal.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a sus docentes, quienes contribuyeron en mi formación académica

A la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y a sus docentes por haberme acogido en sus aulas y donde me impartieron los conocimientos para poder desempeñarme como profesional.

Mi especial reconocimiento a mis asesores Q.F. Enrique Javier Aguilar Felices de la EFP de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH y MSc. León Villegas Vilchez de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por brindarme su apoyo y conocimientos, y quienes hicieron posible el desarrollo y culminación del presente trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, en especial a mis colaboradores, Blg. Julio Hidalgo.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. ANTECEDENTES	4
2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS	5
2.3. ESTRÉS OXIDATIVO	10
2.4. FLAVONOIDES	11
2.5. EL HÍGADO	13
2.6. HÍGADO Y FÁRMACOS	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1. UBICACIÓN	16
3.2. MATERIALES	16
3.2.1. Población	16
3.2.2. Material biológico	16
3.3. DISEÑO METODOLÓGICO	17
3.3.1. Preparación del extracto hidroalcohólico	17
3.3.2. Pruebas de identificación de metabolitos secundarios	18
3.3.3. Determinación de la Actividad antioxidante	18
3.3.4. Determinación de la Actividad Hepatoprotectora	20
3.3.4. Determinación de la Toxicidad Aguda DL50	24
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	24
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	32
VI. CONCLUSIONES	39
VII. RECOMENDACIONES	40
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
IX. ANEXOS	45

Efecto antioxidante y hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu". Ayacucho – 2008.

Autor: Bach. Yeleni Ketty, COLLAZOS MEDRANO.

Asesor interno: Mg. Q.F. Enrique Javier, AGUILAR FELICES.

Asesor externo: Msc. León, VILLEGAS VILCHEZ.

RESUMEN

El estudio del presente trabajo se realizó en los Laboratorios de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia de la ciudad de Lima, donde se determinó el efecto antioxidante y hepatoprotector de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu", recolectadas en el distrito de Vinchos, región de Ayacucho.

La muestra recolectada se sometió inicialmente a un Screening Fitoquímico, encontrando metabolitos secundarios como son los flavonoides, taninos y fenoles, destacando su presencia por su acción farmacológica. En la determinación del Efecto Antioxidante por el método de secuestro del radical libre DPPH, se obtuvo un Porcentaje de Inhibición mas alto de 76.81%, a una concentración de extracto hidroalcohólico de 1000ug/mL, usando como patrón a la vitamina C. En la evaluación del efecto hepatoprotector mediante la determinación enzimática del Glutamato-Oxalacetato-Transaminasa (GOT) y Glutamato-Piruvato-Transaminasa (GPT), se utilizó 42 ratas albinas de la cepa Holtzman, distribuidos aleatoriamente en 6 grupos de 7 ratas cada uno, sometidos a un modelo experimental in vivo de hepatotoxicidad con paracetamol; posteriormente se obtuvo suero sanguíneo de las venas laterales del cuello, este se sometió a un análisis y se obtuvieron los valores de transaminasa GOT y GPT, en los resultados se observaron que los niveles de ambas transaminasas disminuyeron considerablemente, mostrando el *Baccharis genistelloides* la actividad mas alta a la concentración de 250mg/Kg de extracto, el cual posee mejor efecto hepatoprotector. En la determinación de la Toxicidad Aguda (DL₅₀), el *Baccharis genistelloides* no presentó muestra de toxicidad siendo inocuo a las dosis trabajadas.

Palabras clave: antioxidante, hepatoprotector, nivel de transaminasas, *Baccharis genistelloides*.

I. INTRODUCCIÓN

El interés del estudio científico de nuestra flora peruana, se ha incrementado debido a que nuestros recursos naturales son muy variados, estos trabajos de investigación llevan consigo el poder demostrar las propiedades medicinales y así tener una alternativa en la utilización de agentes terapéuticos debido a que en la actualidad las personas recurren cada vez más a la fitoterapia para el tratamiento de sus afecciones (Chávez y col., 1996).

Cuando se estudia un determinado compuesto con el objeto de verificar si el mismo podría actuar como antioxidante, corresponde discriminar muy bien entre la actividad antioxidante y las propiedades antioxidantes; o lo que es lo mismo, la capacidad de retardar la degradación oxidativa y la reactividad del compuesto en estudio con radicales libres que puedan propagar una reacción de este tipo. Siendo susceptibles al daño oxidativo órganos como el hígado, estomago, pulmón, corazón (Urquiaga y Leighton, 2000).

La degeneración y envejecimiento celular son procesos normales del organismo, pero se buscan detener estos procesos a veces acelerados en algunas personas, pues nos hace vulnerables a enfermedades que nos restan fortaleza y la expectativa de vida.

El hombre posee órganos que cumplen funciones importantes para el buen funcionamiento del organismo, como es el hígado una glándula más

grande del cuerpo que cumple procesos metabólicos, donde se metabolizan la mayor parte de sustancias ingeridas como medicamentos y químicos como el alcohol, este último ocasiona efectos nocivos o a veces irreversibles provocando alguna alteración hepática. Por ello el interés de buscar agentes terapéuticos que cumplan la función hepatoprotectora, es decir que protejan el hígado de los efectos nocivos de hepatotoxinas que el hombre ingiere, y como poder contrarrestar las alteraciones en los mecanismos de defensa antirradicalario que es de suma importancia (Highleyman y Franciscus, 2008)

Los flavonoides son conocidos por sus propiedades antioxidantes y de su uso como hepatoprotector, conteniendo un grupo extenso de metabolitos secundarios ampliamente distribuidos y comunes en el reino vegetal, dotándole de estas propiedades a la especie de *Baccharis genistelloides* por su riqueza en flavonoides (Guerra, 1995) (Martínez y col., 2002).

La especie en estudio *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu” es utilizada tradicionalmente como purgativo a nivel del hígado y vesícula, antidiarreico, eficaz en desordenes digestivos, en gastroenteritis y actualmente está siendo conocido por su propiedad antioxidante, es por ello que se busca contribuir como alternativa terapéutica garantizando el adecuado uso y manejo de la medicina tradicional (Arroyo y col., 2000) (Fernández y Nieto, 1982).

Los objetivos del presente trabajo fueron:

a. Objetivo General

- Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu” como antioxidante y hepatoprotector.

b. Objetivos Específicos

- Realizar el Screening fitoquímico de *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu”.
- Determinar la capacidad antioxidante a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides*.
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* que muestre mejor efecto hepatoprotector.
- Comparar la actividad antioxidante y hepatoprotector con los estándares de Vitamina C y Silimarina respectivamente.
- Determinar la toxicidad aguda (DL50).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

Troncoso y Guija (2007), encontró efecto antioxidante y hepatoprotector del extracto de *Petroselinum sativum* “perijil”, induciendo a intoxicación hepática con paracetamol; demostrando así el extracto un mejor efecto hepatoprotector que el fármaco hepatoprotector (FHP).

Pérez y col. (2000), reportó la actividad antioxidante de un extracto natural de origen vegetal tanto *in vitro* como *in vivo* con similar comportamiento al α -tocoferol que fue tomado como referencia.

Rojas (2001), encuentra actividad hepatoprotectora de los extractos acuosos de *Oenothera rosea* “yawar socco”, inducido por un agente hepatotóxico, los responsables de esta actividad es debido a presencia de grupos flavonoides y fenólicos.

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso de que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen

propiedades medicinales y ampliar sus experiencias en el empleo de los productos que de ellas se extraen (Chávez y col., 1996).

2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS

2.2.1. *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu”

Clasificación taxonómica: Se realizó según el sistema de clasificación de Engler & Prantl, modificado por Melchior (Anexo N° 01), es como sigue:

DIVISIÓN: ANTOPHYTA (ANGIOSPERMAE)

CLASE: DICOTILEDONEAE

SUB-CLASE: METACLAMIDEAS

ORDEN: CAMPANULALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GÉNERO: *Baccharis*

ESPECIE: *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers.

N. V.: “quimsa cuchu”, “karkeja”

Fuente: Constancia del Herbarium Huamangensis.

2.2.2. Descripción Botánica

Planta dioica, perenne, de color verde cenizo, es un subfrútice de 30-50cm. de altura, ramosa en la base, glabro y resinoso (Guerra, 1995).

Raíz. Es embrionaria, hipogea, de consistencia semileñosa, de duración perenne, esta raíz es axonomorfa, que se extiende horizontalmente dando brotes de trecho en trecho (Guerra, 1995).

Tallo. Es erguido, delgado, de consistencia semileñosa, forma cilíndrica y de investidura lisa. Bastante ramificado y nudosis de apariencia triangular por el

desarrollo de tres hileras (alas). Foliáceas glabras, que desempeñan la función de hojas normales, con puntuaciones glandulares (Arroyo y col., 2004) y (Guerra, 1995).

Hoja Modificada. Según la forma de la lámina es obovada u oblanceolada, el ápice es agudo por la base es cuneada, y su margen es entero, la textura es membranácea, el pecíolo se encuentra ausente, su venación es camptodroma del tipo branquidroma. La nudosis se presenta cada dos alas foliáceas en forma de espiral centripeta normalmente, es allí donde nace una inflorescencia o una ramificación, no se presentan uniones de tres alas (Guerra, 1995).

Inflorescencia. Son capítulos rodeados de brácteas involucrales numerosos a lo largo de las ramitas superiores de color blanco acaramelado, formando falsas espigas laxas, que nacen en los nudos o en el ápice. Hay capítulos masculinos y capítulos femeninos. Los capítulos femeninos presentan involucro cilíndrico de brácteas lanceoladas y oblongas agudas o semiobtusas de color pajizo. Mientras que los capítulos masculinos son de brácteas anchas, obtusas de color pardo claro en la base (Gene y col. 1996).

Flor. Las flores son tubulares actinomorfas y pentámeras; Las flores femeninas presentan corola filiforme, cáliz formado por un vilano representado por un penacho de pelos lisos y delgados, gineceo de ovario ínfero, bicarpelar y unilocular, estilo filamentosos con dos ramas estigmáticas; las flores masculinas presentan corola tubulosa pentalobada blanca, cáliz formado por papus grueso y crespo en la base y en las puntas, estambres en número de cinco fusionados en las anteras.

Fruto. Aquenio de forma filiforme, de costados glabros, presencia de surcos laterales y un anillo en el reborde apical, con presencia de papus blanco uniseriado (Guerra, 1995).

2.2.3. Habítad y Distribución Geográfica

El *Baccharis genistelloides* es una especie herbácea ampliamente distribuida en la zona altoandina del Perú, Bolivia, Ecuador, Colombia, norte de Argentina sur de Brasil (regiones montañosas), donde su rango altitudinal va desde los 2000 a los 4000 m.s.n.m (Guerra, 1995).

Se caracterizan porque se desarrollan mejor en climas húmedos, desarrollándose así por encima de los matorrales subhúmedos y presenta gran cantidad de arbustos ocupando la parte alta de los bosques montanos, su suelo preferido es de tipo arenoso, pero que se encuentre formando ciénagas (Gene, 1996) (Común, 2001).

Este matorral se caracteriza por presentar arbustos de hojas típicamente coriáceas. Los arbustos alcanzan los dos metros.

2.2.4. Formas de Utilización:

Los pueblos indígenas, han utilizado esta hierba por siglos para curar enfermedades comunes. Sus aplicaciones en medicina herbaria, fueron registradas en el Brasil en 1931 por Pio Correa, que escribió acerca de una infusión de *Baccharis genistelloides*, utilizado para la esterilidad en mujeres e impotencia en los hombres. Correa lo describió atribuyéndole las características terapéuticas de un tónico amargo, febrífugo, y estomáquico, con las aplicaciones para la dispepsia, la gastroenteritis, las enfermedades del hígado y la diarrea.

En medicina herbaria peruana, se utiliza para las dolencias del hígado, los cálculos biliares, la diabetes, las alergias, el gas y la hinchazón intestinal, y las enfermedades venéreas.

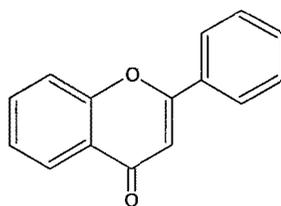
Otras aplicaciones populares en medicina herbaria son tratar la malaria, la diabetes, úlceras del estómago, la garganta y la tonsilitis dolorida, la angina, la

anemia, la diarrea, la indigestión, la inflamación urinaria, hidropesía, desórdenes del riñón, gusanos intestinales, la lepra, y la mala circulación sanguínea (Arroyo y col., 2000) (Fernández y Nieto, 1982).

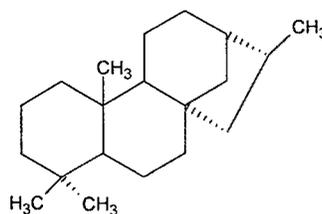
2.2.5. Composición Química y Valor Nutricional

Baccharis genistelloides es rica fuente de flavonoides. Ciertos flavonoides, tales como silimarina, han demostrado características hígado-protectoras y se utilizan para muchas condiciones del hígado en sistemas herbarios de la medicina. Contiene flavonoides hasta un 20%, incluyendo la quercetina y la luteolina. Los flavonoides se consideran los componentes activos principales del quimsacucho. En 1994, los científicos demostraron que estos productos químicos tenían efectos máximos contra gusanos. Esto podía explicar posiblemente el uso del quimsa cuchu como agente de expeler gusanos intestinales (Guerra, 1995).

Los principales compuestos que más destacan en el género *Baccharis* son los flavonoides, diterpenos de núcleo clerodanos, labdanos, también se ha observado con cierta frecuencia la presencia del diterpeno kaurano, triterpenos, lactonas sesquiterpénicas de núcleo germacreno, ácidos cumáricos, tricétenos, sesquiterpenos y fenilpropanoides (Gonzaga y col., 2005)



Flavonoide



Kaurano

2.2.6. Parte Utilizada

Un gran porcentaje de la población utiliza la planta para curarse de algunas dolencias siendo una de las plantas medicinales más extensamente conocidas en el Perú y diferentes partes de América del Sur (Común, 2001).

Se utiliza la parte aérea de la planta para la preparación de infusiones, tinturas y otros.

La población utiliza su riqueza natural convenientemente es así que considera al quimsa cuchu como seguro y no tóxico.

Esta especie fue propuesta en la categoría de “cerca de peligro”, debido a su uso comercial como planta medicinal utilizada para enfermedades hepáticas (Arroyo y col., 2004)

2.3. ESTRÉS OXIDATIVO

La producción de las Especies Reactivas del Oxígeno (EROs), entre ellas radicales libres, es un proceso natural, inevitable y constante; un continuo biológico. Todas las células, independiente de su tipo, están permanentemente produciendo estas moléculas con electrones desapareados. El daño que los radicales libres provoquen en los diferentes tejidos depende del balance entre EROs y las defensas antioxidantes de que dispone el organismo humano.

El sistema antioxidante provee al organismo de defensas contra la acción dañina de los radicales libres. Estas defensas son múltiples, variadas y operan en diferentes niveles y momentos. La salud de las personas se relaciona con el adecuado balance oxidativo. Es decir, que radicales libres y antioxidantes se equilibren de modo tal que se minimice el daño y se retarde la aparición de enfermedades. El estrés oxidativo, sin embargo, ocurre en los organismos que, por mala nutrición, enfermedad u otras causas, pierden el equilibrio entre radicales libres y antioxidantes (Urquiaga y col., 2000).

Estrés oxidativo, se define como una situación en la que existe tanto un aumento en la velocidad de generación de especies reactivas del oxígeno, como una disminución de los sistemas de defensa, lo que resulta en una mayor concentración, en estado estacionario, de EROs. Es en esta situación de estrés oxidativo, en la que se manifiestan las lesiones que producen los radicales libres. Estos reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN al interior de las células, y con componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que, si es muy extenso, puede llevar a la muerte celular.

Numerosas enfermedades han sido vinculadas a estrés oxidativo. En la actualidad se tienen evidencias, que permiten postular mecanismos a través de los cuales se produce, por ejemplo, la aterosclerosis. El desbalance entre oxidantes y antioxidantes está asociado a la fisiopatología de aterosclerosis, cáncer, porfirias, cataratas, sobrecarga de hierro y cobre, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer y otras demencias, diabetes, malaria, artritis, enfermedades autoinmunes, inflamaciones crónicas y otras. Asimismo, el proceso biológico del envejecimiento se acelera en relación directa con la magnitud del estrés oxidativo.

2.4. FLAVONOIDES

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas,

verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana.

Los 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, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer.

Sus propiedades anti-radicales libres, se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilo y superóxido; especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica y se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides (con respuestas anti-prostanoide y anti-inflamatoria), de prevenir la agregación plaquetaria (efectos antitrombóticos) y de proteger a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación (prevención de la placa de ateroma).

Además de sus conocidos efectos antioxidantes, los flavonoides presentan otras propiedades que incluyen, la estimulación de las comunicaciones a través de las uniones en hendidura, el impacto sobre la regulación del crecimiento celular y la inducción de enzimas de detoxificación tales como las monooxigenasas dependientes de citocromo P-450, entre otras (Martínez y col., 2002).

2.4.1. Acción antioxidante de los flavonoides

La capacidad de los polifenoles vegetales para actuar como antioxidantes en los sistemas biológicos fue ya reconocida hace varias décadas pero hasta hace poco tiempo que su mecanismo antioxidante tuvo un creciente interés debido a que los flavonoides presentan una amplia actividad farmacológica.

Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres. Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones. Otras actividades que merecen ser destacadas son su acción antiviral y antialérgica, así como sus propiedades antitrombótica y antiinflamatoria (Martínez y col., 2002).

2.5. EL HÍGADO

El hígado es el órgano interno más grande e importante del cuerpo, se encarga de cerca de 500 funciones orgánicas. Juega un papel en la digestión, en el metabolismo del azúcar y las grasas, e incluso en el sistema inmunitario. Procesa prácticamente todo lo que comemos, respiramos o absorbemos a través de la piel.

Alrededor del 90% de los nutrientes del organismo procedentes de los intestinos pasan por el hígado. El hígado convierte los alimentos en energía, almacena nutrientes y produce proteínas sanguíneas.

Además, actúa como filtro para eliminar patógenos y toxinas de la sangre. En los fetos en formación, los hematíes se producen en el hígado (Highleyman y Franciscus, 2008).

2.5.1. Desintoxicación

El hígado desempeña un papel crucial en la eliminación de sustancias nocivas para el organismo, tales como alcohol, drogas y fármacos, disolventes, pesticidas y metales pesados. Cuando nos exponemos a niveles elevados de estos productos químicos, el hígado puede verse saturado.

Muchos fármacos, incluso algunos sin receta como el paracetamol, casi todos los medicamentos anti-VIH y ciertos remedios de plantas medicinales, se metabolizan en el hígado y pueden causarle daños. Es preciso tener especial cuidado a la hora de combinar múltiples fármacos o plantas medicinales. Si el hígado resulta dañado no es capaz de descomponer y excretar los fármacos con eficiencia, lo cual puede aumentar excesivamente los niveles de medicamento en la sangre e intensificar los efectos secundarios (Highleyman y Franciscus, 2008).

2.5.2. Daños hepáticos

Teniendo en cuenta la cantidad de funciones vitales que realiza el hígado, no es sorprendente que las lesiones hepáticas afecten a casi todos los sistemas orgánicos, entre ellos al digestivo, endocrino, cardiovascular e inmunitario. A medida que el hígado va sufriendo daños, el tejido normal se va volviendo fibroso (fibrosis), graso (esteatosis) y cicatrizado (cirrosis). Cuando el órgano está demasiado lesionado, pierde la capacidad de desempeñar sus funciones.

El tejido cicatrizado puede impedir que la sangre fluya a través del hígado, haciéndola retroceder. Esto puede causar hipertensión portal (tensión alta), varices (vasos sanguíneos estirados y debilitados) en el esófago y el estómago, y hemorragias internas. Cuando las lesiones hepáticas son graves también puede aparecer ascitis (acumulación de fluidos en el abdomen), edema (inflamación de brazos y tobillos) y daños renales.

Las personas que sufren daños hepáticos durante mucho tiempo pueden llegar a tener cáncer de hígado (Highleyman y Franciscus, 2008).

2.6. HÍGADO Y FÁRMACOS

Siendo el principal órgano metabolizador de fármacos, la mayoría de estos pasan por el hígado para ser biotransformados en sustancias que se

excreten con facilidad. Las alteraciones hepáticas reducen el metabolismo de los fármacos, y a su vez, este órgano es muy sensible a la acción de los medicamentos los cuales muchos de ellos producen alteraciones hepáticas. Estas alteraciones muchas veces son subclínicas, es decir, sólo se detectan al hacer pruebas de laboratorio. Otras veces las alteraciones inducidas dan lugar a síntomas de daño hepático.

La toxicidad hepática inducida por los fármacos puede ser:

- a. Interferencia con el metabolismo de la bilirrubina.

Fármacos como la novobiocina y ciertos derivados de la testosterona, son capaces de inducir la aparición de ictericia por el mecanismo.

- b. Lesión directa de la célula hepática.

Ciertos fármacos son tóxicos de acción directa sobre el hepatocito y pueden producir toxicidad dosis dependiente, es decir, a mayor exposición al fármaco, más probabilidad de que aparezca lesión hepática. Entre los fármacos que pueden inducir esta toxicidad, se encuentran las tetraciclinas, paracetamol, citostáticos, etc.

- c. Reacciones alérgicas.

Estas reacciones no son previsibles y pueden aparecer con una sintomatología parecida a la hepatitis o como un cuadro similar a la ictericia obstructiva. En el primer caso la reacción no se distingue de la hepatitis viral aguda. Su aparición no está relacionada con la dosis aunque es más frecuente después de múltiples exposiciones. Son fármacos capaces de inducir estas reacciones el halotano, isoniacida, etionamida y los inhibidores de la MAO (Highleyman y Franciscus, 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación, se llevó a cabo en los Laboratorios de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia; durante los meses de Abril a Agosto del 2008, en la ciudad de Lima.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Población

Baccharis genistelloides “quimsa cuchu” del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, región de Ayacucho.

3.2.2. Material biológico

a) Material vegetal

Se colectaron aproximadamente 2 Kg. de la parte aérea de *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu” en los alrededores del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, región de Ayacucho, ubicada a 3450 m.s.n.m., durante los meses de febrero y marzo del 2008.

La planta herborizada, fue identificada por la Bióloga Laura Aucasime Medina, dicha muestra se encuentra en el Herbario de Plantas Medicinales "Herbarium Huamangensis", de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

b) Unidades Experimentales

Para el trabajo de investigación, se emplearon 50 ratas machos *Ratus norvegicus* de la Cepa Holtzamn (190 - 250 g), de 3 meses de edad. Procedentes del Bioterio de los Laboratorio de Investigación y Desarrollo de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

El acondicionamiento de las ratas es adecuada a una temperatura ambiente, en jaulas de material plástico con techos de rejilla de acero inoxidable, a cuales se les alimento y suministro agua, *ad libitum*.

3.3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.3.1. Preparación del Extracto Hidroalcohólico

La planta colectada, previamente se secó a la sombra en un lugar con adecuada ventilación y se molieron en un molino de cuchillas, hasta obtener un polvo fino para su conservación y estudio.

Se peso 1 Kg. del material vegetal y se extrajeron exhaustivamente con 7 litros (aprox.) de etanol al 80% mediante maceración por una semana y con agitación permanente, con el objetivo de obtener el mayor rendimiento posible. Posteriormente se procedió al proceso de filtrado con papel Whatman Nº 40, seguidamente se concentro el filtrado a una presión reducida (133 mmHg aprox.) por medio de un rotavapor a temperatura menor de 40° C, a sequedad.

3.3.2. Screening Fitoquímico del *Baccharis genistelloides*

La identificación de metabolitos secundarios presentes en el *Baccharis genistelloides*, se efectuó de manera cualitativa empleando reacciones de coloración, descrita según el procedimiento de Lock (1994).

3.3.3. Determinación de la Actividad Antioxidante mediante la captación del Radical Libre DPPH (Rivero y Betancort, 2006).

a. Fundamento: Tiene como finalidad evaluar la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar un radical. El compuesto 1,1-difenil-picrilhidrazil (DPPH) es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm, de forma que su concentración se puede determinar mediante métodos espectrofotométricos.

b. Procedimiento: Para la determinación de la actividad antioxidante, se procede a la realización de los tratamientos:

Tratamiento 1: Control

Tratamiento 2: Extracto Hidroalcohólico 31.25 ug/mL

Tratamiento 3: Extracto Hidroalcohólico 62.5 ug/mL

Tratamiento 4: Extracto Hidroalcohólico 125 ug/mL

Tratamiento 5: Extracto Hidroalcohólico 250 ug/mL

Tratamiento 6: Extracto Hidroalcohólico 500 ug/mL

Tratamiento 7: Extracto Hidroalcohólico 1000 ug/mL

Tratamiento 8: Control positivo (Vitamina C) 0.14 ug/mL

Cada uno de estos tratamientos se realizó por triplicado, posteriormente se tomo y evaluó la lectura de la absorbancia a 517nm como se indica en el diseño experimental.

c. Diseño experimental:

Diseño experimental de la determinación de la actividad antioxidante.

TRATAMIENTOS REACTIVOS	T1 (mL)	T2 (mL)	T3 (mL)	T4 (mL)	T5 (mL)	T6 (mL)	T7 (mL)	T8 (mL)
DPPH	2	2	2	2	2	2	2	2
MUESTRA	--	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	--
Vitamina C	--	--	--	--	--	--	--	0.05
ETANOL	0.05	--	--	--	--	--	--	--

Incubar por 30 minutos protegido de la luz, para luego evaluar la disminución de la absorbancia a 517nm en un espectrofotómetro.

Para iniciar la lectura de las muestras se utiliza un blanco con metanol para ajustar el espectrofotómetro.

d. Determinación del porcentaje de inhibición:

Se procedió al cálculo del porcentaje de inhibición, indicando cuanta capacidad de captación de los radicales libres presenta la muestra comparativamente con el estándar que viene a ser la Vitamina C.

$$\% \text{ INHIBICIÓN} = \left[\frac{A_o - A_e}{A_o} \right] \times 100$$

Donde:

A_o = Absorbancia sin extracto.

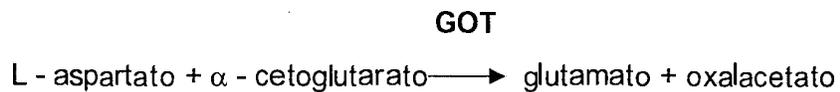
A_e = Absorbancia con extracto o estándar.

3.3.4. Determinación de la Actividad Hepatoprotectora

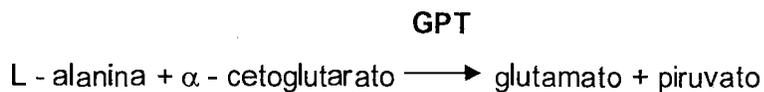
Se aplicara el diseño completamente randomizado.

a. Fundamento: Se determina la actividad enzimática de Glutamato Oxalacetato Transaminasa (GOT) y Glutamato Piruvato Transaminasa (GPT) en suero, realizándose por el método colorimétrico utilizando un espectrofotómetro UV.

- 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.

b. Procedimiento:

b.1. Inducción de daño hepático por paracetamol (SONG-CHOW, 1994)

Los animales de experimentación serán mantenidos en ayuno por dieciséis horas antes de realizar el experimento.

Los animales se pesaron y separaron en 6 grupos experimentales de 7 ratas cada uno:

- El grupo A, recibe el 2% de Carboximetil celulosa (CMC), a una dosis de 10 mL /Kg, por vía oral, considerando como control negativo.
- El grupo B, recibió el Paracetamol (600 mg/Kg en 2% de CMC, a dosis de 10 mL/Kg), vía oral, considerando como grupo testigo.

- El grupo C, recibió Silimarina (25 mg/Kg en 2% de CMC, a dosis de 10mL/Kg), vía oral 2 horas después de administrado el Paracetamol considerado como grupo control positivo.
- El grupo D, recibió extracto hidroalcohólico 100 mg/Kg, en 2% de CMC, a dosis de 10 mL/Kg.
- El grupo E, recibió extracto hidroalcohólico 250 mg/Kg, en 2% de CMC, a dosis de 10 mL/Kg.
- El grupo F, recibió extracto hidroalcohólico 500 mg/Kg, en 2% de CMC, a dosis de 10 mL/Kg.

El extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* a diferentes dosis se administró por vía oral 2 horas después de administrar el paracetamol, pasado las 24 horas después de administrar el paracetamol las ratas fueron sacrificadas.

b.2. Determinación de los niveles séricos de transaminasas GOT y GPT

Después de sacrificar las ratas se tomaron aproximadamente 5 mL de sangre por animal directamente de las venas laterales del cuello. La sangre obtenida se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos, se extrajo el suero en tubos de ensayo debidamente tapados y protegidos de la luz. Para la determinación de GOT y GPT se emplearon el Set de reactivos Transaminasas 200 marca Wiener.

b.2.1. Determinación de GOT (Transaminasa Glutámica Oxalacética)

La determinación de GOT se realizó por el método de reacciones acopladas, analizándose mediante colorimetría utilizando espectrofotómetro UV.

1. Reactivos provistos

- **Sustrato GOT:** solución con 100 mM de L-aspartato y 2 mM de α -cetoglutarato en buffer fosfatos 100 mM, pH 7,4. (Listo para usar)

- **Reactivo 2,4-DNFH:** solución conteniendo 1 mmol de 2,4-dinitrofenilhidracina en ácido clorhídrico 1 mol/l. (Listo para usar)
- **Diluyente para Enzimas concentrado:** solución de hidróxido de sodio 4 mol/l. (Preparar el Diluyente para Enzimas concentrado diluyendo a 1 litro con agua destilada según las indicaciones del rótulo).

2. Reactivos no provistos

Agua destilada.

3. Procedimiento

La lectura de cada muestra se realizo en un espectrofotómetro cumpliéndose las siguientes condiciones:

- Temperatura de reacción: 37° C
- Tiempo de reacción: 40 minutos
- Espesor de la cubeta: 1 cm

REACTIVOS	GOT	
	BLANCO	MUESTRA
TUBOS		
Sustrato	0.5 mL	0.5mL
Colocar en baño María a 37° C +- 0.5° C por unos minutos.		
Suero	-	100ul
Agua Destilada	100ul	-
Mezclar por agitación suave e incubar exactamente 30 minutos y agregar:		
Reactivo 2,4 DNFH	0.5 mL	0.5 mL
Mezclar. Dejar 10 minutos a 37° C. Luego agregar:		
Diluyente de enzimas	5 mL	5 mL
Mezclar por inversión y retirar del baño María.		

Después de 2 minutos leer la absorbancia en espectrofotómetro a 505 nm, llevando el aparato a cero con agua destilada (los valores de las absorbancias fueron utilizados para los cálculos respectivos).

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

Los datos de absorbancia de la tabla de conversiones, para el cálculo de los resultados de GOT, proporcionada por el Set de Reactivos Wiener se indica en el Anexo N° 09.

b.2.2. Determinación de GPT (Transaminasa Glutámica Pirúvica)

La determinación de los niveles de GPT se realizó también por el método de reacciones acopladas.

1. Reactivos provistos

- **Sustrato GPT:** solución con 200 mM de dl-alanina y 2 mM de α - cetoglutarato en buffer fosfatos 100 mM, pH 7,4.
- **Reactivo 2,4-DNFH:** solución conteniendo 1 mmol de 2,4-dinitrofenilhidracina en ácido clorhídrico 1 mol/l. (Listo para usar)
- **Diluyente para Enzimas concentrado:** solución de hidróxido de sodio 4 mol/l. (Preparar el Diluyente para Enzimas concentrado diluyendo a 1 litro con agua destilada según las indicaciones del rótulo).

2. Reactivos no provistos

Agua destilada.

Nota: La preparación, el análisis de las muestras, lectura y cálculo de GPT (U/L), se procedió igual que GOT.

Los datos de **absorbancia** de la tabla de conversiones, para el cálculo de los resultados de GPT, proporcionada por el Set de Reactivos Wiener se indican en el Anexo Nº 09.

3.3.5 Determinación de la Toxicidad Aguda DL50

Para el ensayo se emplearon 30 ratas machos de la Cepa Holtzamn. Se evaluó el efecto del extracto hidroalcohólico administrado por vía oral, los animales se encontraban entre 220 g -230 g de peso, los cuales fueron divididos en 6 grupos, cada grupo consta de 5 ratas, siendo uno de ellos el grupo control, las dosis variadas de extracto hidroalcohólico (0.250 g/Kg, 0.500 g/Kg, 1 g/Kg, 2 g/Kg, 5 g/Kg) fueron administrados por vía oral empleando una sonda nasogástrica metálica. Las diluciones del extracto fueron realizadas con agua destilada. La mortalidad fue observada a las 72 horas, tiempo en el cual los animales tuvieron acceso a comida y agua normalmente.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico los resultados fueron procesados y expresados como la media +- error estándar. Así mismo, se realizó pruebas estadísticas de ANOVA y TUKEY para ver la significancia de los resultados ($p < 0.05$).

IV. RESULTADOS

Cuadro Nº 01. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etéreo, alcohólico y acuoso de *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu”.

METABOLITO SECUNDARIO	ENSAYO (Rx.)	E.Et.	E.A.	E.Ac.
Aceites y grasas	Sudán III	+++	.-	.-
Alcaloides	Dragendorff, Mayer, Wagner.	.-	-	-
Antraquinonas	Borntrager	.-	++	.-
Azúcares reductores	Fehling	.-	++	++
Flavonoides	Shinoda	.-	+++	++
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	.-	+	.-
Lactonas y cumarinas	Baljet	+	+	.-
Mucilagos	Mucilagos	.-	.-	-
Principios Amargos	Principios amargos	.-	.-	++
Resinas	Resinas	.-	++	.-
Saponinas	Espuma	.-	++	+++
Taninos y fenoles	Tricloruro férrico	.-	+++	++
Triterpenos y esteroides	Lieberman-Burchard	+	+	.-

Rx : Reacción

(+) : Positivo

(-) : Negativo

(+) : Leve

(++) : Moderado

(+++): Fuerte

E.Et. : Extracto etéreo

E.A. : Extracto alcohólico

E.Ac. : Extracto acuoso

(.-) : Ensayo no realizado

Cuadro N° 02. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico al 80% del *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu”.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO (Rx)	Ext. Hid.	CARACTERÍSTICAS
Alcaloides	Dragendorff, Mayer, Wagner.	-	S.Rx.
Antraquinonas	Borntrager	+	Precipitado rojo
Flavonoides	Shinoda	+++	Precipitado guindo
Lactonas y cumarinas	Baljet	++	Fluorescencia roja
Taninos y fenoles	Tricloruro férrico	+++	Precipitado verde oscuro
Triterpenos y esteroides	Lieberman-Burchard	+	Formación de anillo naranja
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma

Rx : Reacción

(+) : Positivo

(-) : Negativo

(+) : Leve

(++) : Moderado

(+++): Fuerte

Ext.Hid. : Extracto hidroalcohólico

S.Rx. : Sin reacción

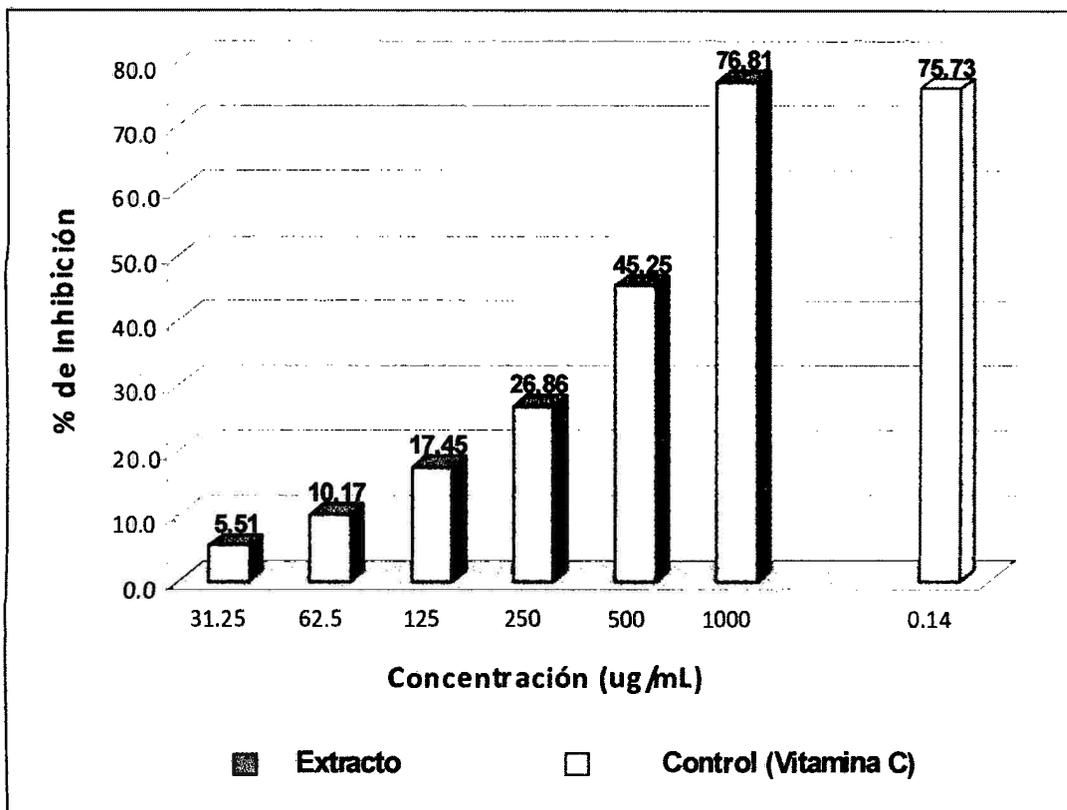


Gráfico Nº 01. Efecto antioxidante expresado en el porcentaje de inhibición de radicales libres con respecto a la concentración de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".

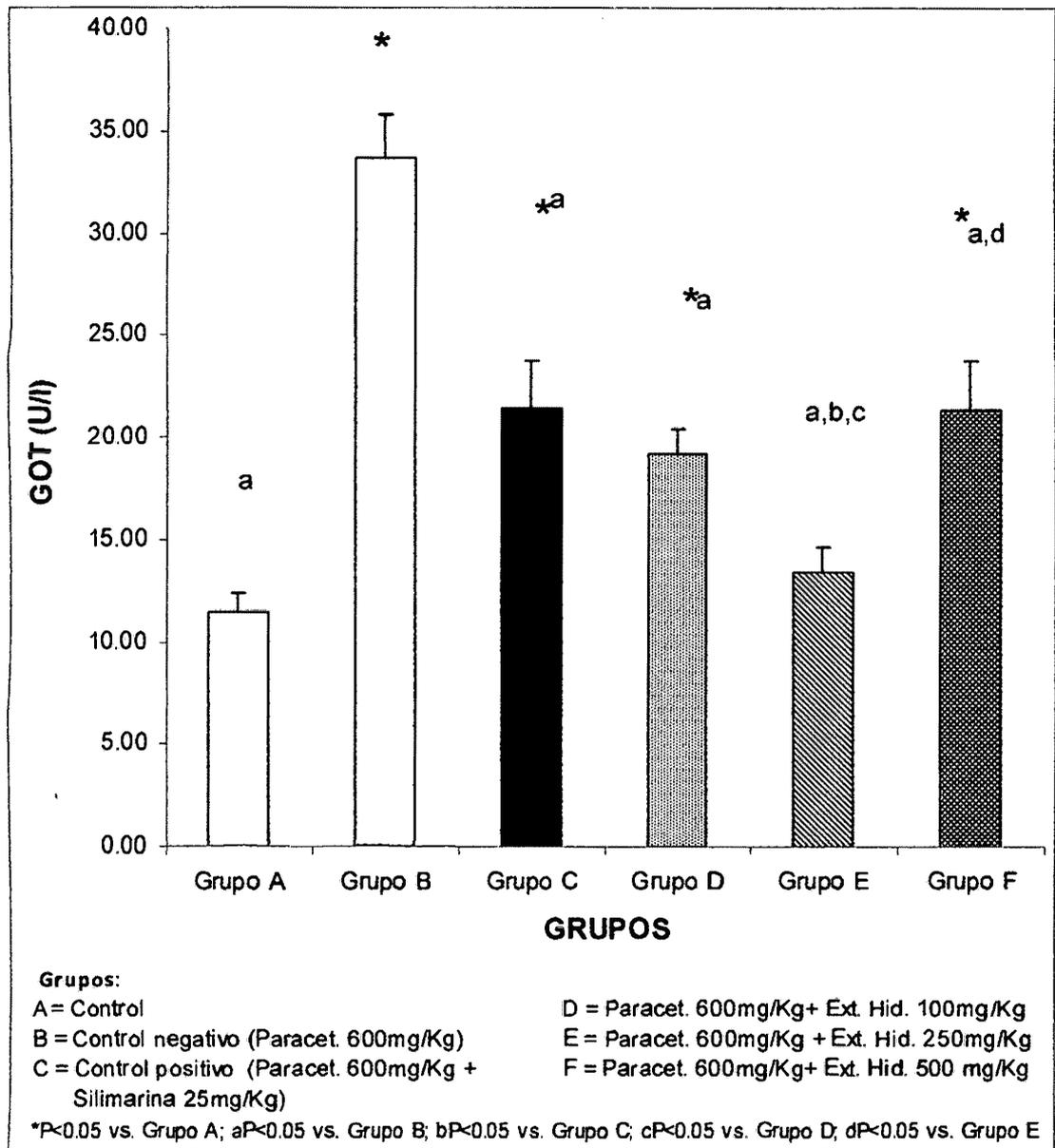


Grafico N° 02. Niveles de GOT (U/L) vs tratamientos, en la Evaluación del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".

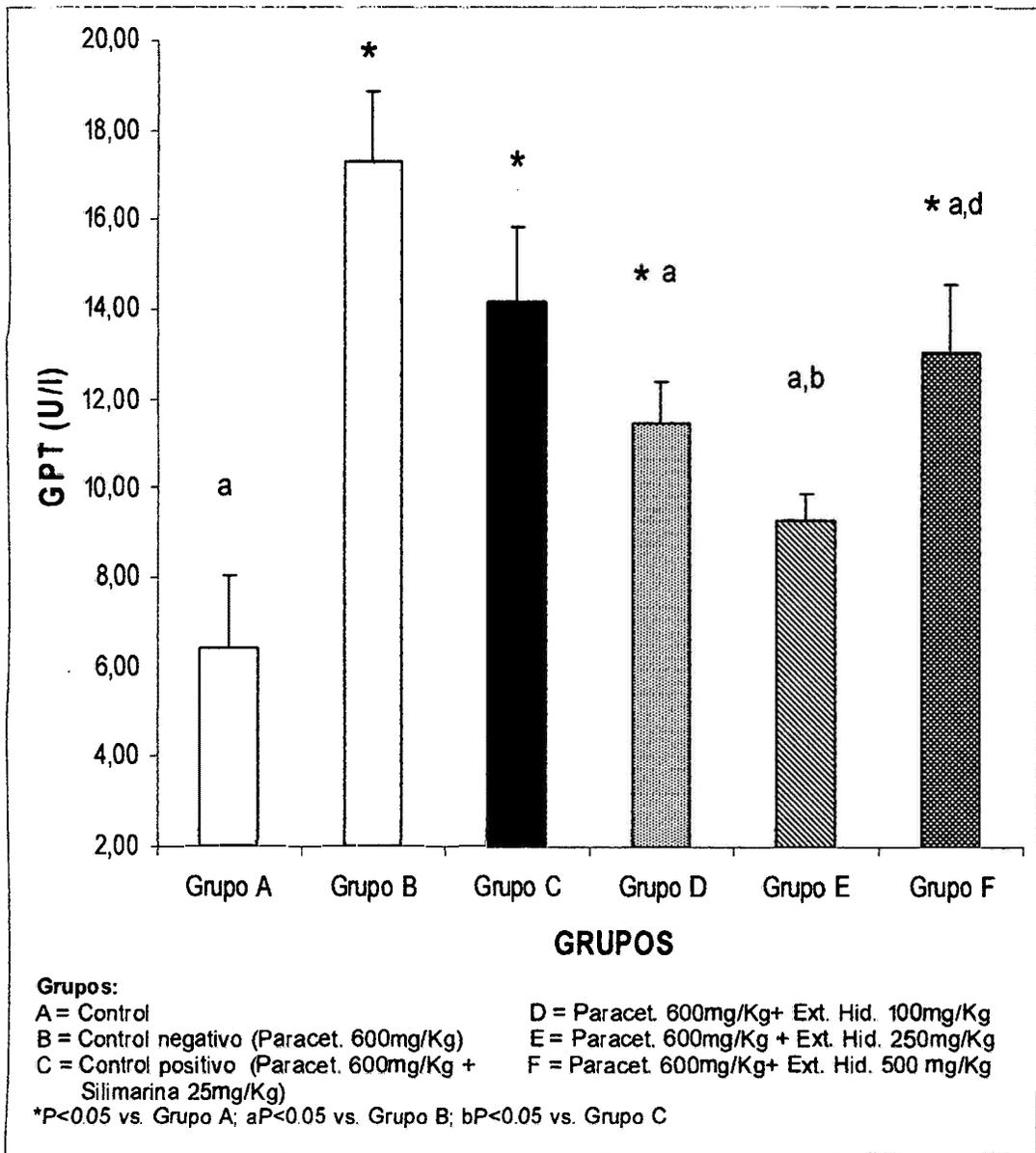
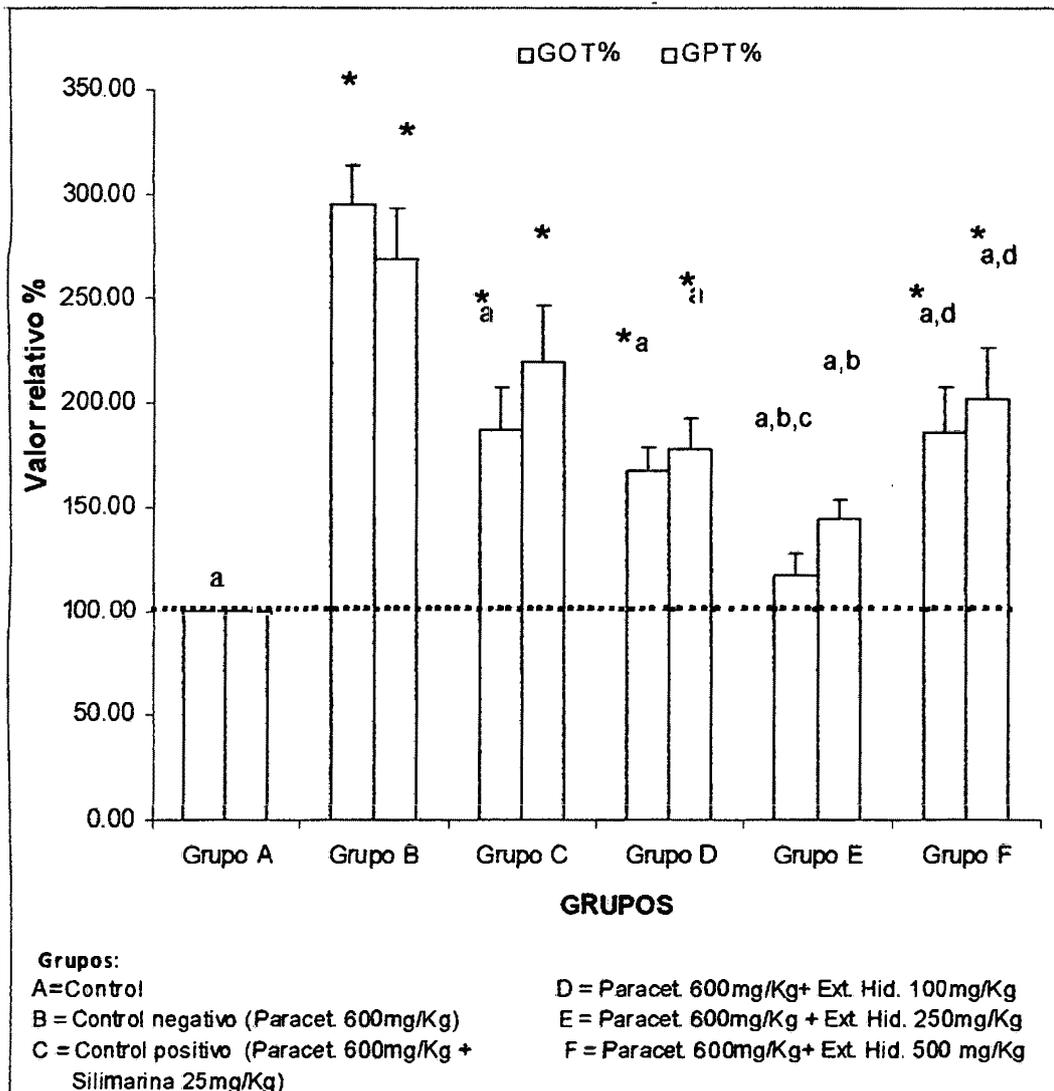


Gráfico N° 03. Niveles de GPT (U/L) vs tratamientos en la Evaluación del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".



ANOVA: $p < 0.05$

Gráfico N° 04. Niveles de GOT (U/L) y GPT (U/L) en los tratamientos luego de la evaluación del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".

Cuadro N° 03. Determinación de la Dosis Letal Media (DL50)

DOSIS LETAL MEDIA (DL₅₀)				
DOSIS EXTRACTO (g/Kg)	VOLUMEN DE EXTRACTO (mL)	MORTALIDAD (horas)		
		24	48	72
0.250	1	0	0	0
0.500	1	0	0	0
1	1	0	0	0
2	1	0	0	0
5	1	0	0	0

Nota: En la determinación de la dosis letal media (DL₅₀), no hubo mortalidad en el tiempo de observación, tampoco se observó algún efecto adverso durante ese tiempo.

V. DISCUSIÓN

La naturaleza nos ofrece una gran oportunidad para el descubrimiento de especies vegetales, que tengan compuestos naturales con diversas propiedades medicinales, como los antirradicalarios o también llamados antioxidantes, que permiten que no se produzcan las especies reactivas oxigenadas, quienes son causantes de diversos daños en el organismo como lo relacionado a enfermedades degenerativas, aceleración del envejecimiento, inflamación y otros.

Baccharis genistelloides “quimsa cuchu”, es una especie vegetal que es usada en Sudamérica en medicina tradicional, para la cura de distintas enfermedades comunes y dentro de ellas para tratamientos de enfermedades del hígado.

En el Cuadro N° 01, se observa el screening fitoquímico del *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu”, encontrándose en el extracto etéreo la presencia de aceites y grasa en gran cantidad, al respecto Kuklinski (2000), menciona que los aceites poseen solubilidad en dicho extracto coincidiendo con los resultados obtenidos; así mismo, se encontró moderadamente lactonas y cumarinas que de igual forma Kuklinski (2000) señala que dichas estructuras se localizan casi de forma exclusiva en la familia de las Asteráceas. En el extracto alcohólico y acuoso se encontraron los flavonoides, taninos, fenoles y saponinas en gran

cantidad; la presencia de antraquinonas, lactonas y cumarinas, principios amargos se reportan en moderada presencia, glicósidos cardiotónicos, triterpenos y esteroides en leve presencia.

En el Cuadro N° 02 muestra los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu", cuya identificación se realizó con la finalidad de poder corroborar que en dicho extracto utilizado en la investigación, se pudo extraer la mayor cantidad de metabolitos secundarios tal es así que destaco la presencia de flavonoides, taninos y fenoles en gran cantidad, lactonas y cumarinas en moderada cantidad.

Gonzaga y col. (2005), señalan que químicamente las especies del género *Baccharis* contiene los mismos compuestos, pero seguramente difieren en la naturaleza química de los mismos, es así que los principales metabolitos presentes en este género son los flavonoides de tipo flavanona y flavona; y los diterpenos de núcleo kaurano, clerodanos y labdano. Así mismo, Gonzaga y col. (2005) refiere que el *Baccharis genistelloides*, posee en su composición: 10 Flavonas, 1 Flavonona y 10 Diterpenos del núcleo Clerodano. Atribuyéndole las propiedades biológicas de esta especie a los flavonoides y los diterpenos.

Kuklinski (2000), refiere que los flavonoides poseen actividad farmacológica variada como, antiinflamatorias, antihepatotóxicos y antirradicales libres, y así como, los taninos poseen propiedades antioxidantes por que son capaces de captar radicales libres e inhiben la peroxidación lipídica como también inhiben la autooxidación del ácido ascórbico (Vitamina C).

En el Gráfico N° 01, muestra la 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 el *Baccharis genistelloides* a concentración de 1000ug/mL presentó el porcentaje de inhibición

más alta, 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 obtuvieron en el trabajo presentado por Casanova (2002), donde también señala que el porcentaje de inhibición de radicales libres va en función directa con la concentración de extracto.

Martínez y col. (2002), señala que la capacidad de los polifenoles vegetales para actuar como antioxidantes se debe a que pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres.

La acción neutralizadora de los Flavonoides sobre los radicales libres, según Villar Del Fresno (1999), se debe a la heterogeneidad de los distintos tipos de radicales libres (anión superóxido, radical hidroxilo, etc.), es así que diferentes grupos interactúan con el Radical libre DPPH, lo que se utiliza para poner de manifiesto de manera general, su actividad antirradicalaria. Así mismo Villar del Fresno (1999) señala que existen condiciones estructurales que favorecen la actividad antirradicalaria, y eso hace que los Flavonas y sobre todo, Flavonoles, se muestren como los más activos; aunque también existen otros flavonoides que no cumplen estas condiciones (derivados del Flavano) pero poseen actividad antirradicalaria.

De la misma forma podemos observar el porcentaje de inhibición del extracto con el control (Vitamina C), donde la concentración más alta del extracto presenta capacidad neutralizadora similar al del estándar, el resultado obtenido permite demostrar que el extracto presenta un comportamiento semejante al de la Vitamina C, aunque se utilizaron concentraciones bajas de estándar ya que se

sabe que este es un compuesto químicamente puro y de actividad antioxidante conocida.

Se puede indicar que el extracto de *Baccharis genistelloides* posee una capacidad de capturar radical DPPH, lo que podría convertirse en un extracto candidato para el aislamiento de sustancias activas como antioxidantes, puesto que este caso la actividad observada equivale al efecto total (sinérgico o no) de la mezcla.

Para la evaluación de la actividad hepatoprotectora de *Baccharis genistelloides* se empleo un modelo experimental de hepatotoxicidad en ratas tratados con paracetamol (Song-Chow, 1994), donde se mide los niveles séricos enzimáticos de GPT y GOT. Debido a que las transaminasas GOT y GPT son enzimas que se encuentran en los hepatocitos, siendo utilizados como marcadores de lesión hepática (Restrepo, 1994).

En el Grafico N° 02 se presentan los valores promedios de GOT para cada grupo de experimentación al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcoholico del *Baccharis genistelloides*. El grupo que recibe paracetamol a dosis de 600mg/Kg, reporta 33.7 ± 5.68 U/L observándose un incremento en los valores de GOT de 22.30 U/L en comparación con el grupo control, que fue de 11.4 ± 2.57 U/L, al analizar mediante la prueba de Tukey de comparaciones múltiples (Anexo N° 011) 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.

El grupo que recibió el fármaco silimarina (25mg/Kg) 2 horas después de administrados la sobredosis de paracetamol, reportó 21.4 ± 6.0 U/L observándose diferencia significativa con respecto al grupo control negativo paracetamol ($p < 0.05$) con una disminución de 12.3 U/L.

Analizando los niveles de GOT de los grupos tratados con el extracto hidroalcohólico del *Baccharis genistelloides* a dosis de 100 y 250 mg/Kg 2 horas después de administrado el paracetamol, se aprecia diferencias significativas respecto al grupo control negativo paracetamol ($p < 0.05$). La dosis de 100 mg/Kg de extracto reporta 19.1 ± 3.29 U/L disminuyendo en 14.6 U/L, la dosis de 250 mg/Kg reportó 13.4 ± 2.99 U/L disminuyendo en 20.3 U/L respecto al grupo control negativo paracetamol. Mientras que la dosis de 500 mg/Kg reporta 21.3 ± 6.47 U/L, disminuyendo en 12.4 U/L respecto al grupo control negativo paracetamol.

En el Gráfico N° 03 se muestra los valores de GPT, donde el grupo B que recibió paracetamol reportó 17.3 ± 4.15 U/L observándose un incremento de los valores en 10.9 U/L respecto al control (6.4 ± 4.24 U/L) observándose diferencia significativa $p < 0.05$ (Anexo N° 11).

El grupo C que recibió silimarina 2 horas después de generado la toxicidad con paracetamol reportó 14.1 ± 4.49 U/L aumentando en 7.7 U/L respecto al control, no siendo estadísticamente significativo respecto al grupo paracetamol.

Los grupos D y F que recibieron 100 y 500 mg/Kg del extracto reportaron 11.4 ± 2.57 U/L y 13.0 ± 4.08 U/L disminuyendo en 5.9 y 4.3 U/L respectivamente, presentando diferencia significativa respecto al grupo paracetamol.

El grupo E tratado con 250 mg/Kg de extracto reportó 9.3 ± 1.50 U/L presentando diferencia significativa respecto al grupo control positivo, disminuyéndose los niveles de toxicidad superiores al grupo C de silimarina.

De acuerdo al análisis reportado para ambas enzimas, observamos en el Gráfico N°04 los valores de GOT y GPT expresados en porcentajes relativos en comparación con el grupo control (A), donde se muestra que tanto GOT y GPT presentan un similar comportamiento que los valores absolutos.

Donde la generación de especies reactivas con el paracetamol, muestra diferencia estadísticamente significativas en todos los grupos experimentales, correspondiendo el valor más bajo para el grupo E que recibió tratamiento a la concentración de 250mg/Kg de extracto hidroalcohólico del *Baccharis genistelloides*, disminuyendo los valores de GOT y GPT, resultado que indica que la planta a esta dosis, presenta mayor actividad y teniendo así como indicador a ambas enzimas. En tanto que la concentración de 500mg/Kg de extracto no presenta mayor efecto, refiere Rojas (2001), que dicho comportamiento no se debe únicamente a la presencia de los flavonoides en el extracto, sino que hay presencia de una mezcla de metabolitos secundarios, que pueden influenciar en la actividad y que a mayor concentración de extracto no siempre se ejerce mayor efecto.

Observando el comportamiento de las transaminasas, podemos decir que el *Baccharis genistelloides* “quimsauchu” presenta efecto hepatoprotector a la concentración de 250mg/Kg, atribuyéndose este efecto refiere Palacios (1997) y Kuklinski (2000) a la presencia de metabolitos secundarios como los flavonoides y taninos en la planta.

La evaluación de la actividad tóxica del extracto hidroalcohólico del *Baccharis genistelloides* “quimsauchu” por vía oral, es indispensable para considerar que el tratamiento aplicado es seguro. La actividad tóxica define la toxicidad intrínseca de la planta, predice el daño de una especie, determina la especie más susceptible, identifica los órganos blancos, informa sobre el riesgo de la exposición aguda así como predice el tratamiento de una sobredosis.

La susceptibilidad de los animales de experimentación, depende del tipo de sustancia a aplicar, como el caso de las ratas de laboratorio son bastante sensibles a sustancias tóxicas presentes en las plantas. La administración de los extractos en cantidades crecientes, permite evaluar los límites de toxicidad, los ensayos se prueban por dos vías, varias dosis y ambos sexos. Teniendo en cuenta factores como edad, sexo, peso, especie, condiciones ambientales, acceso a la comida y al agua.

Señala Cáceres (1996), que la observación que se efectúa incluyen relación-dosis respuesta, síntomas y signos tóxicos, conducta del animal durante el periodo (de observación) tiempo de muerte.

Para el análisis de la toxicidad (DL₅₀), efectuada por vía oral, el extracto fue inoculado a dosis variables de (0.250 g/Kg, 0.500 g/Kg, 1 g/Kg, 2 g/Kg, 5 g/Kg de rata); el extracto hidroalcohólico no presentó ninguna muestra de toxicidad hasta las 72 horas de observación, siendo el *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu” inocuo a las dosis trabajadas.

VI. CONCLUSIONES

1. La planta de *Baccharis genistelloides* “quimsauchu” presenta los siguientes metabolitos secundarios: aceites, antraquinonas, lactonas y cumarinas, triterpenos, esteroides, azúcares reductores, principios amargos, saponinas y siendo los más importantes los flavonoides taninos y fenoles quienes otorgan propiedades antioxidantes y hepatoprotectoras a la especie vegetal.
2. El extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* “quimsauchu” presenta actividad antioxidante y al incremento de la concentración del extracto de *Baccharis genistelloides* “quimsauchu” potencia la actividad antioxidante.
3. El *Baccharis genistelloides* muestra actividad antioxidante por su capacidad de captar radicales libres e inhibiendo la oxidación en un 76.81% a una concentración de extracto de 1mg/mL.
4. El *Baccharis genistelloides* muestra actividad hepatoprotectora contra el daño producido por el paracetamol; obteniéndose mejores resultados a una concentración de 250mg/Kg de extracto.
5. En la DL₅₀ no se observó muestra de toxicidad, siendo el *Baccharis genistelloides* inocuo a las dosis trabajadas.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar el aislamiento y cuantificación de los principios activos y determinar el o los metabolitos responsables de la acción antioxidante y hepatoprotectora del *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu”.
2. Continuar con estudio del “quimsa cuchu” realizando formulaciones farmacéuticas de jarabes y cremas tópicas, que faciliten el uso de la planta como medicina alternativa.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aguilar, E.** 2005. Guía de Prácticas de Farmacognosia. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga.
2. **Aguilar, E., Anaya, B. y Diez, J.** 2000. Efecto antioxidante de los extractos de *Oenothera rosea* "yawar soqo". FITO. 2000. Primer Congreso Peruano de Plantas Medicinales. Lima.
3. **Arroyo, J.; Ricra, V. y Geldres, I.** 2004. Manual de modelos Experimentales de Farmacología. Editorial Publicaciones Asdimor. Lima.
4. **Arroyo, J.; Ráez, E.; Rojas, J.; Condori, M.; Barreda, M. y Chávez, N.** 2000. Efecto de la asociación de *Lavatera asurgentiflora* (malva), *Psoralea glandulosa* (culén) y *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre úlcera gástrica en ratas. Primer Congreso Internacional FITO 2000. Primer Congreso Peruano de Plantas Medicinales y Fitoterapia. Instituto de Fitoterapia Americano. Libro de resúmenes. Pág. 161-164-Lima.
5. **Asociación argentina de Fitomedicina Carqueja.** Editorial de Buenos Aires de Argentina. URL.www.plantas_medicinales.org/carqueja-muestra.htm.
6. **Cáceres, A.** 1996. Plantas medicinales de Guatemala. Editorial Universidad San Carlos. Guatemala.
7. **Cárdenas, E.** 2000. Sustancias Flavonoides. Revisión temática, antioxidantes y calidad de vida. URL.www.antioxidantes.com.ar/12/indice_Art_Total/html.
8. **Casanova, G.** 2004. Actividad antioxidante y antiulcerosa del extracto acuoso liofilizado de *Calceolaria cuneiformes* R & P subsp. *Cuneiformes* "ayapa zapatum". Tesis Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
9. **Castro, Y.** 2001. Evaluación de la actividad citoprotectora gástrica de *Baccharis genistelloides* "kimsacucho" Ayacucho-2001. Tesis Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
10. **Chávez, R.; Plaza, A. y Lock, O.** 1996. Antioxidantes de origen vegetal publicada por la Sección de Química del Departamento de Ciencias de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Revista de Química 10(1):71-101. Lima.

11. **Común, P.** 2001. Taxonomía de las plantas medicinales de mayor uso comercializadas en la ciudad de Ayacucho. Tesis Químico Farmacéutico Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
12. **Cornejo, V.** 1982. "Las Plantas y sus Utilidades" Editorial Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
13. **Cotillo, P.** 1998. "Farmacología Mecanismos de Acción Glosario". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
14. **De Arruda Camargo, M.** 1998. Plantas Medicinai s e de rituais afro-brasileiros. Estudio etnofarmacobotánico. Asociación Argentina de Fitomedicina Carqueja. Editorial. Universidad de Buenos Aires. URL. www.plantasmedicinales.org/carqueja-muestra.htm.
15. **De Aumada, J.; Santana, M. y Serrano, J.** 2003. Farmacología Práctica, para las diplomaturas de ciencias de la salud. Ediciones Días de Santos S.A. Madrid.
16. **Enciclopedia Británica.** 1985. Volumen 32.
17. **Fernández, M. y Nieto, A.** 1982. "Plantas Medicinales". Ediciones Universidad de Navarra. España.
18. **Fernández, J.** 2000. Hepatotoxicidad en pre-adolescentes y adolescentes causados por el uso de Tolueno en el producto terokal, como Inhalante – Ayacucho. Tesis Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
19. **Font Quer.** 1981. Plantas Medicinales el Dioscorides Renovado. Séptima edición. Editorial Labor. Barcelona-España.
20. **Gené, R.; Cartañá, C.; Adzet, T.; Martín, C.; Parello, T y Cañigüeral, S.** 1996. Antiinflammatory of *Baccharis trimera*. Identification of its active constituenst. *Planta Med.* 1996 Jun;62 (3):232-235. Brasil.
21. **Gonzaga, L.; Costa, I. y Geraldo, M.** 2005. Género *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos químicos, Económicos y Biológicos. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 1, 85-94.
22. **Goodman y Gilman.** 1996. "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica". Novena edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana S.A. México.
23. **Guerci, A.** 1994. Métodos de análisis clínico y su interpretación. Editorial El Ateneo. Cuarta edición. Buenos Aires.

24. **Guerra, D.** 1995. Aislamiento y elucidación estructural de Flavonoides de *Baccharis genistelloides*. Tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
25. **Harrison's, J.** 1991. "Principios de la Medicina Interna". Editorial Nueva Interamericana S.A. México.
26. **Highleyman, L. y Franciscus, A.** 2008. El Hígado. HCSP. Hoja Informativa. Versión 1.0. Editorial Hepatitis C Support Project. URL.www.hcvadvocate.org/español.asp.
27. **Kuklinski, C.** 2000. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Editorial Ediciones Omega S.A Barcelona-España.
28. **Lehninger, A.** 1999. Bioquímica, Las bases moleculares de la estructura y función celular. Editorial Ediciones Omega. 2ª edición. Barcelona-España
29. **Litter, M.** 1991. "Compendio de Farmacología". Editorial. El Ateneo S. A. Cuarta edición. Buenos Aires.
30. **Lock, O.** 1994. "Investigación Fitoquímica". Pontificia Universidad Católica del Perú. Segunda edición. Fondo Editorial. Lima.
31. **Lynch, M. y Stankley, S.** 1974, Métodos de laboratorio. 2da. Edición. Editorial Interamericana. Pág. 343.
32. **Martínez-Flóres, S.; González-Gallego, J.; Culebras, J. y Tuñón, M.** 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. (2002) XVII (6) 271-278. Madrid.
33. **Mendoza, J.** 2008. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epi. wayra muña en ratas. Tesis Químico Farmacéutico Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
34. **Miranda, M.** (1996). Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad de la Habana. Cuba.
35. **Palacios, J.** 1997. Plantas medicinales nativas del Perú. CONCYTEC. Lima.
36. **Pérez de Alejo, J.; Sánchez, N. y Bu Wong, M.** 1998. Actividad antioxidante *in vivo* e *in vitro* de un extracto natural de origen vegetal. La sustancia natural PFL. Rev Cubana Plant Med;3(3):19-22.

37. **Restrepo, J.** 1994. Fundamentos de Medicina-Gastroenterología-Hepatología. Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB). 3ra edición. Medellín-Colombia.
38. **Rivero, A. y Betancort, J.** 2006. Evaluación de la actividad antioxidante de Polifenoles de algas marinas. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. España. (www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/).
39. **Rojas, A.** 2001. Evaluación del efecto hepatoprotector de extractos acuosos de *Oenothera rosea* "yawar soqo". Tesis Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
40. **Romero, M.** 2001. Estudio de la elevación de las Transaminasas. URL:www.fisterra.com/guias2/transaminasas.html.
41. **Sotolongo, M.; Miranda, R.; Pérez de Alejo, L. y Rodríguez, G.** 1997. Actividad hepatoprotectora del "ergopanin" melito. (Raintree Nutrition, Inc.). Rev Cub Med Mil v.26 n.2 Ciudad de la Habana jul.-dic.
42. **Soukup, J.** 1970. Vocabulario de nombres vulgares de la flora peruana. Escuela Tipográfica Salesiana. Colegio salesiano. Lima.
43. **Song Chow, L.** 1994. The Evaluation of hepatoprotective effects of Taiwan Folk medicine "Teng-Khia-U" Journal of Ethnopharmacology 45. U.S.
44. **Troncoso, L. y Guija, E.** 2007. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. An. Fac. Med. 68(4). Lima.
45. **Urquiaga, I. y Leighton, F.** 2000. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress URL:www.bio.puc.cl/vinsalud/index.htm. [on line]. 2000, vol.33, No. 2 [citado 05 Enero2009]p. 55-64.
46. **Villar, L.** 1992. Plantas Medicinales del Pirineo Aragonés y demás tierras oscenses. 2ª. Huesca: Diputación Provincial. /edit.html
47. **Villar Del Fresno, M.** 1999. Farmacognosia General. Editorial síntesis. España; 209-217.
48. URL:www.rain-tree.com/carqueja.htm
49. URL:www.bio.puc.cl/vinsalud/index.htm.

IX. ANEXOS

Anexo N°01

Clasificación botánica de *Baccharis genistelloides*



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. **Yeleni Ketty, COLLAZOS MEDRANO**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

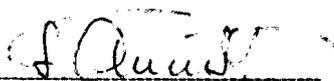
Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchior, y es como sigue

DIVISIÓN	:	ANTOPHYTA (ANGIOSPERMAE)
CLASE	:	DICOTILEDONEAE
SUBCLASE	:	METACLAMIDEAS
ORDEN	:	CAMPANULALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Baccharis
ESPECIE	:	<i>Baccharis genistelloides</i> (Lam.) Pers.
N.V.	:	"quimsauchu", "karkeja"

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

Ayacucho, 09 de Enero del 2009




Blga. Laura Aucasime Medina
Jefe

Anexo N°02

Muestra vegetal recolectada



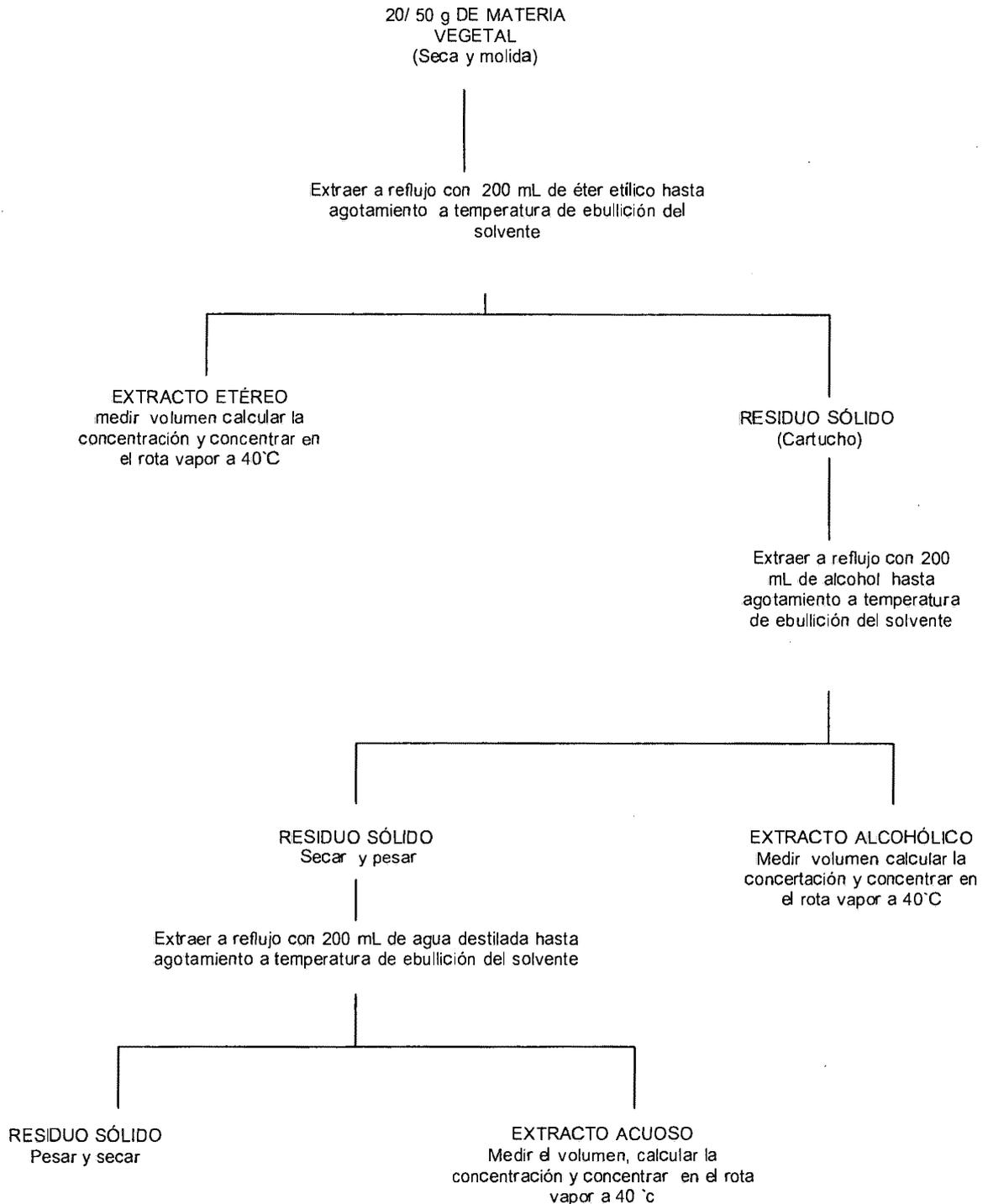
Foto N 01: Planta de *Baccharis genistelloides*



Foto N 02: Flores de *Baccharis genistelloides*

Anexo N° 03

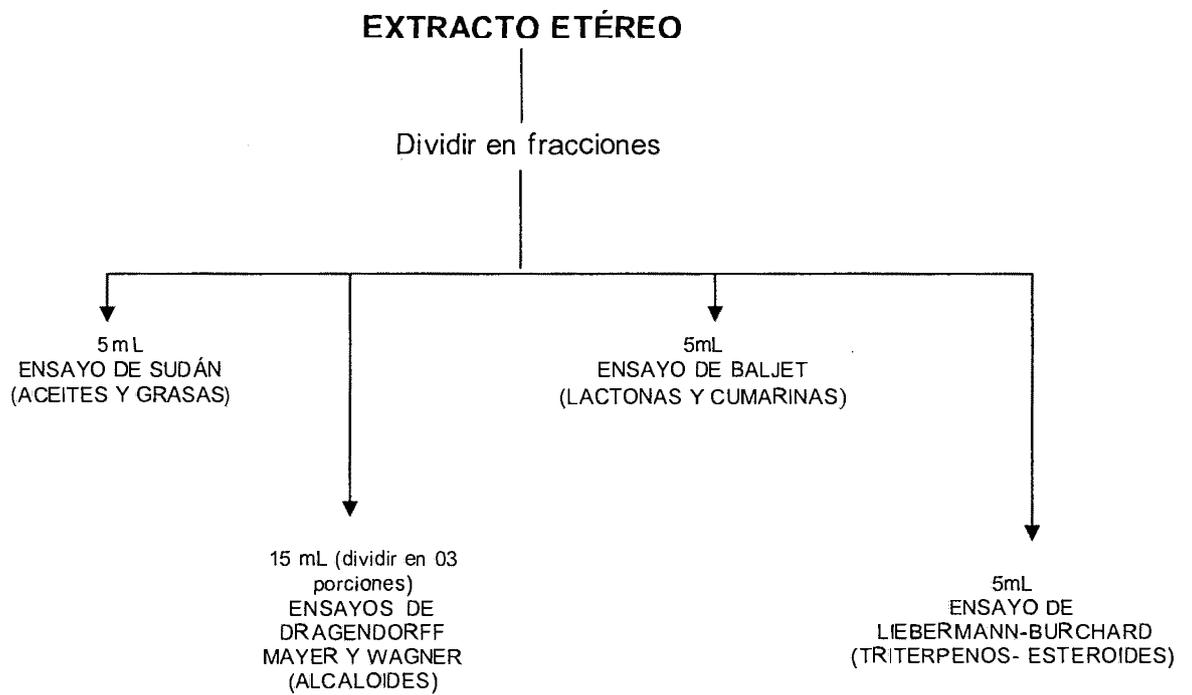
Extracción sucesiva del material vegetal para la aplicación de técnicas de tamizaje fitoquímico



Fuente: Miranda, M. (1996).

Anexo N° 04

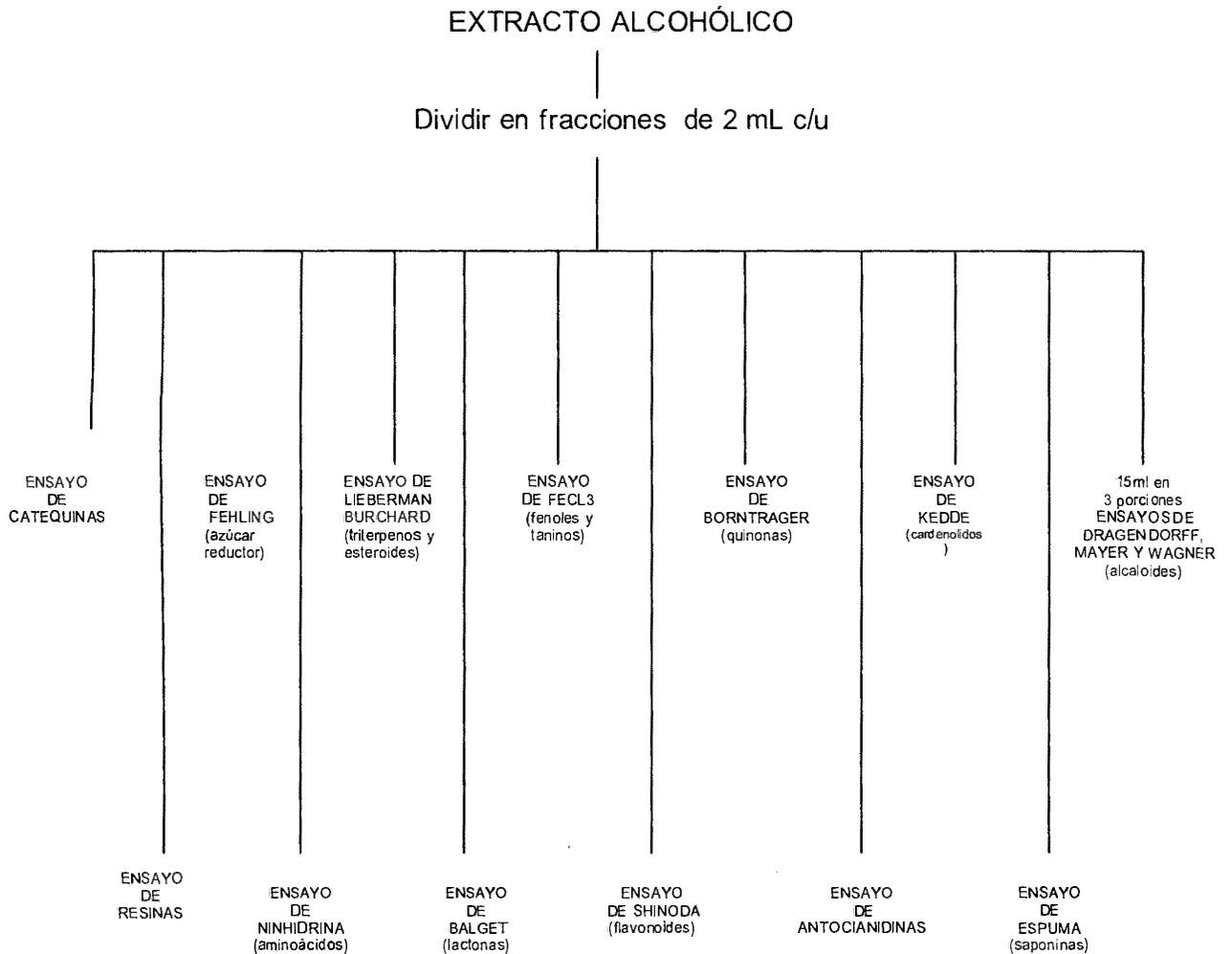
Esquema de las reacciones a realizar en el extracto etéreo



Fuente: Miranda, M. (1996).

Anexo N° 05

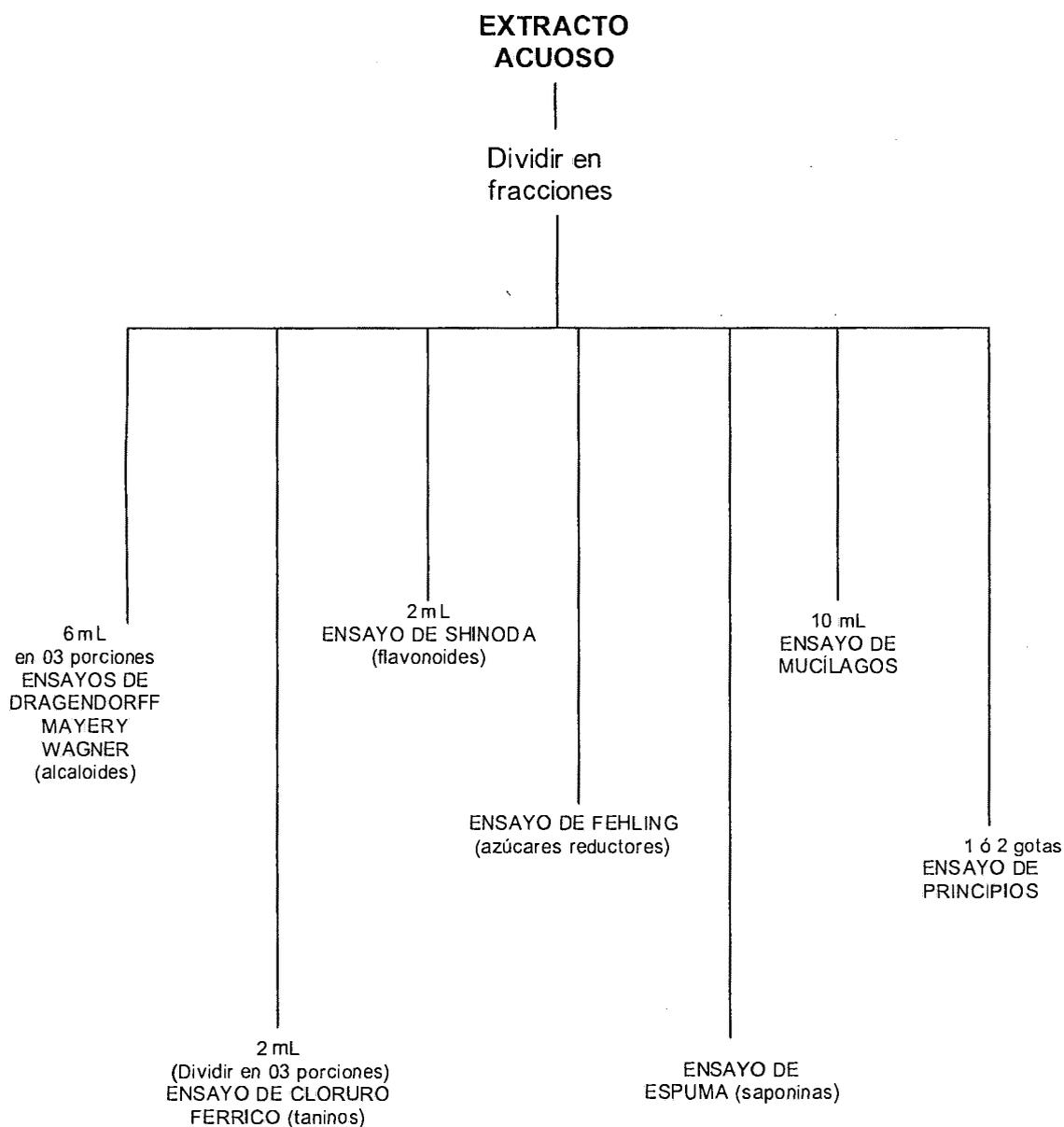
Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico



Fuente: Miranda, M. (1996).

Anexo N° 06

Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso



Fuente: Miranda, M. (1996).

Anexo N° 07

Proceso realizado en la determinación del efecto antioxidante



Foto N° 03: Lectura de la absorbancia para la evaluación del efecto antioxidante



Foto N° 04: Resultado de la reacción del extracto con el DPPH, demostrando efecto antioxidante mediante la decoloración del color característico del radical libre.

Anexo N° 08

Procesos realizados en la determinación del efecto hepatoprotector



Foto N° 05: Proceso de inducción de daño hepático con paracetamol y posterior tratamiento con el extracto



Foto N° 06: Obtención de la muestra de sangre de las venas laterales del cuello.

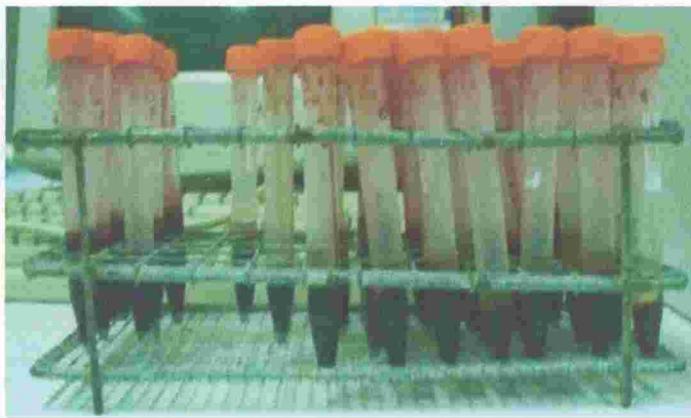


Foto N° 07: Obtención del suero y lectura del nivel de transaminasas.

Anexo Nº 09

Tabla de conversión para cálculo de los resultados GOT y GPT

AST (GOT)	
Absorbancia505 nm	Método UV Convencional (U/L)
0.034	5
0.047	7
0.061	10
0.080	14
0.100	19
0.115	23
0.129	26
0.146	31
0.164	36
0.180	41
0.196	46
0.210	50
0.224	55
0.239	61
0.254	67
0.269	74
ALT (GOT)	
Absorbancia505 nm	Método UV Convencional (U/L)
0.034	5
0.061	9
0.100	14
0.129	18
0.164	23
0.196	27
0.224	32
0.254	37
0.284	42
0.314	47
0.340	52
0.364	57
0.389	62
0.415	68
0.442	74
0.468	80
0.494	87
0.524	96
0.552	104

Anexo N° 10

Resultados de la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) para los valores de Transaminasas (GOT y GPT) obtenidos del efecto hepatoprotector de *Baccharis genistelloides*

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
valor GOT U/l	control	7	11.4286	2.57275	.97241	9.0492	13.8080	9.00	16.00
	control negativo parac	7	33.7143	5.67786	2.14603	28.4631	38.9654	29.00	46.00
	control positivo parac + sila	7	21.4286	5.99603	2.26629	15.8832	26.9740	16.00	34.00
	parac + extracto 100mg/kg	7	19.1429	3.28778	1.24267	16.1022	22.1836	14.00	24.00
	parac + extracto 250mg/kg	7	13.4286	2.99205	1.13089	10.6614	16.1958	9.00	17.00
	parac + extracto 500mg/kg	7	21.2857	6.47339	2.44671	15.2988	27.2726	13.00	31.00
	Total	42	20.0714	8.52941	1.31612	17.4135	22.7294	9.00	46.00
valor GPT U/l	control	7	6.4286	4.23703	1.60144	2.5100	10.3472	1.00	13.00
	control negativo parac	7	17.2857	4.15188	1.56926	13.4459	21.1256	12.00	25.00
	control positivo parac + sila	7	14.1429	4.48808	1.69633	9.9921	18.2936	9.00	23.00
	parac + extracto 100mg/kg	7	11.4286	2.57275	.97241	9.0492	13.8080	8.00	15.00
	parac + extracto 250mg/kg	7	9.2857	1.49603	.56544	7.9021	10.6693	7.00	11.00
	parac + extracto 500mg/kg	7	13.0000	4.08248	1.54303	9.2243	16.7757	9.00	20.00
	Total	42	11.9286	4.91584	.75853	10.3967	13.4605	1.00	25.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
valor GOT U/I	Between Groups	2163.929	5	432.786	19.027	.000
	Within Groups	818.857	36	22.746		
	Total	2982.786	41			
valor GPT U/I	Between Groups	505.643	5	101.129	7.504	.000
	Within Groups	485.143	36	13.476		
	Total	990.786	41			

Anexo Nº 11

Comparaciones múltiples (diferencias de las medias) de los niveles de GOT (U/l) y GPT (U/l) en los diferentes grupos del efecto hepatoprotector de *Baccharis genistelloides*.

Variable dependiente: GOT

(I) grupos	(J) grupos	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
control	control negativo parac	22.28571(*)	2.54929	.000	27.4559	17.1155
	control positivo parac + sila	10.00000(*)	2.54929	.000	15.1702	-4.8298
	parac + extracto 100mg/kg	-7.71429(*)	2.54929	.005	12.8845	-2.5441
	parac + extracto 250mg/kg	-2.00000	2.54929	.438	-7.1702	3.1702
	parac + extracto 500mg/kg	-9.85714(*)	2.54929	.000	15.0273	-4.6869
control negativo parac	control	22.28571(*)	2.54929	.000	17.1155	27.4559
	control positivo parac + sila	12.28571(*)	2.54929	.000	7.1155	17.4559
	parac + extracto 100mg/kg	14.57143(*)	2.54929	.000	9.4012	19.7416
	parac + extracto 250mg/kg	20.28571(*)	2.54929	.000	15.1155	25.4559
	parac + extracto 500mg/kg	12.42857(*)	2.54929	.000	7.2584	17.5988
control positivo parac + silimarina	control	10.00000(*)	2.54929	.000	4.8298	15.1702
	control negativo parac	12.28571(*)	2.54929	.000	17.4559	-7.1155
	parac + extracto 100mg/kg	2.28571	2.54929	.376	-2.8845	7.4559
	parac + extracto 250mg/kg	8.00000(*)	2.54929	.003	2.8298	13.1702
	parac + extracto 500mg/kg	.14286	2.54929	.956	-5.0273	5.3131
parac + extracto 100mg/kg	control	7.71429(*)	2.54929	.005	2.5441	12.8845
	control negativo parac	14.57143(*)	2.54929	.000	19.7416	-9.4012
	control positivo parac + sila	-2.28571	2.54929	.376	-7.4559	2.8845
	parac + extracto 250mg/kg	5.71429(*)	2.54929	.031	.5441	10.8845
	parac + extracto 500mg/kg	-2.14286	2.54929	.406	-7.3131	3.0273
parac + extracto 250mg/kg	control	2.00000	2.54929	.438	-3.1702	7.1702
	control negativo parac	20.28571(*)	2.54929	.000	25.4559	15.1155
	control positivo parac + sila	-8.00000(*)	2.54929	.003	13.1702	-2.8298
	parac + extracto 100mg/kg	-5.71429(*)	2.54929	.031	10.8845	-.5441
	parac + extracto 500mg/kg	-7.85714(*)	2.54929	.004	13.0273	-2.6869
parac + extracto 500mg/kg	control	9.85714(*)	2.54929	.000	4.6869	15.0273
	control negativo parac	12.42857(*)	2.54929	.000	17.5988	-7.2584
	control positivo parac + sila	-.14286	2.54929	.956	-5.3131	5.0273
	parac + extracto 100mg/kg	2.14286	2.54929	.406	-3.0273	7.3131
	parac + extracto 250mg/kg	7.85714(*)	2.54929	.004	2.6869	13.0273

* La diferencia entre las medias es significativa al nivel .05

Variable dependiente: GPT

(I) grupos	(J) grupos	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
control	control negativo parac	10.85714(*)	1.96223	.000	14.8367	-6.8776
	control positivo parac + sila	-7.71429(*)	1.96223	.000	11.6939	-3.7347
	parac + extracto 100mg/kg	-5.00000(*)	1.96223	.015	-8.9796	-1.0204
	parac + extracto 250mg/kg	-2.85714	1.96223	.154	-6.8367	1.1224
	parac + extracto 500mg/kg	-6.57143(*)	1.96223	.002	10.5510	-2.5918
control negativo parac	control	10.85714(*)	1.96223	.000	6.8776	14.8367
	control positivo parac + sila	3.14286	1.96223	.118	-.8367	7.1224
	parac + extracto 100mg/kg	5.85714(*)	1.96223	.005	1.8776	9.8367
	parac + extracto 250mg/kg	8.00000(*)	1.96223	.000	4.0204	11.9796
	parac + extracto 500mg/kg	4.28571(*)	1.96223	.036	.3061	8.2653
control positivo parac + sila	control	7.71429(*)	1.96223	.000	3.7347	11.6939
	control negativo parac	-3.14286	1.96223	.118	-7.1224	.8367
	parac + extracto 100mg/kg	2.71429	1.96223	.175	-1.2653	6.6939
	parac + extracto 250mg/kg	4.85714(*)	1.96223	.018	.8776	8.8367
	parac + extracto 500mg/kg	1.14286	1.96223	.564	-2.8367	5.1224
parac + extracto 100mg/kg	control	5.00000(*)	1.96223	.015	1.0204	8.9796
	control negativo parac	-5.85714(*)	1.96223	.005	-9.8367	-1.8776
	control positivo parac + sila	-2.71429	1.96223	.175	-6.6939	1.2653
	parac + extracto 250mg/kg	2.14286	1.96223	.282	-1.8367	6.1224
	parac + extracto 500mg/kg	-1.57143	1.96223	.428	-5.5510	2.4082
parac + extracto 250mg/kg	control	2.85714	1.96223	.154	-1.1224	6.8367
	control negativo parac	-8.00000(*)	1.96223	.000	11.9796	-4.0204
	control positivo parac + sila	-4.85714(*)	1.96223	.018	-8.8367	-.8776
	parac + extracto 100mg/kg	-2.14286	1.96223	.282	-6.1224	1.8367
	parac + extracto 500mg/kg	-3.71429	1.96223	.066	-7.6939	.2653
parac + extracto 500mg/kg	control	6.57143(*)	1.96223	.002	2.5918	10.5510
	control negativo parac	-4.28571(*)	1.96223	.036	-8.2653	-.3061
	control positivo parac + sila	-1.14286	1.96223	.564	-5.1224	2.8367
	parac + extracto 100mg/kg	1.57143	1.96223	.428	-2.4082	5.5510
	parac + extracto 250mg/kg	3.71429	1.96223	.066	-.2653	7.6939

* La diferencia entre las medias es significativa al nivel .05

Anexo Nº 12

Resultados de la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) para los Valores Relativos de Transaminasas (GOT y GPT) obtenidos del efecto hepatoprotector de *Baccharis genistelloidas*

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
GOT relativo	control	7	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	control negativo parac	7	295.0000	49.68128	18.77776	249.0525	340.9475	253.75	402.50
	control positivo parac + sila	7	187.5000	52.46527	19.83001	138.9777	236.0223	140.00	297.50
	parac + extracto 100mg/kg	7	167.5000	28.76811	10.87332	140.8939	194.1061	122.50	210.00
	parac + extracto 250mg/kg	7	117.5000	26.18046	9.89529	93.2871	141.7129	78.75	148.75
	parac + extracto 500mg/kg	7	186.2500	56.64215	21.40872	133.8647	238.6353	113.75	271.25
	Total	42	175.6250	74.13385	11.43910	152.5233	198.7267	78.75	402.50
GPT relativo	control	7	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	control negativo parac	7	268.8900	64.58442	24.41062	209.1594	328.6206	186.67	388.89
	control positivo parac + sila	7	220.0000	69.81568	26.38785	155.4313	284.5687	140.00	357.78
	parac + extracto 100mg/kg	7	177.7786	40.01970	15.12602	140.7665	214.7906	124.44	233.33
	parac + extracto 250mg/kg	7	144.4443	23.27181	8.79592	122.9215	165.9671	108.89	171.11
	parac + extracto 500mg/kg	7	202.2229	63.50465	24.00250	143.4908	260.9549	140.00	311.11
	Total	42	185.5560	72.19262	11.13956	163.0591	208.0528	100.00	388.89

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
GOT relativo	Between Groups	165675.781	5	33135.156	19.997	.000
	Within Groups	59653.125	36	1657.031		
	Total	225328.906	41			
GPT relativo	Between Groups	122354.536	5	24470.907	9.646	.000
	Within Groups	91328.227	36	2536.895		
	Total	213682.763	41			

Anexo Nº 13

Comparaciones múltiples (diferencias de las medias) de los Valores Relativos de GOT (U/l) y GPT (U/l) en los diferentes grupos del efecto hepatoprotector de

Baccharis genistelloides.

Variable dependiente: GOT

(I) grupos	(J) grupos	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
control	control negativo parac	195.00000(*)	21.75862	.000	-239.1285	150.8715
	control positivo parac + sila	-87.50000(*)	21.75862	.000	-131.6285	-43.3715
	parac + extracto 100mg/kg	-67.50000(*)	21.75862	.004	-111.6285	-23.3715
	parac + extracto 250mg/kg	-17.50000	21.75862	.427	-61.6285	26.6285
	parac + extracto 500mg/kg	-86.25000(*)	21.75862	.000	-130.3785	-42.1215
control negativo parac	control	195.00000(*)	21.75862	.000	150.8715	239.1285
	control positivo parac + sila	107.50000(*)	21.75862	.000	63.3715	151.6285
	parac + extracto 100mg/kg	127.50000(*)	21.75862	.000	83.3715	171.6285
	parac + extracto 250mg/kg	177.50000(*)	21.75862	.000	133.3715	221.6285
	parac + extracto 500mg/kg	108.75000(*)	21.75862	.000	64.6215	152.8785
control positivo parac + sila	control	87.50000(*)	21.75862	.000	43.3715	131.6285
	control negativo parac	107.50000(*)	21.75862	.000	-151.6285	-63.3715
	parac + extracto 100mg/kg	20.00000	21.75862	.364	-24.1285	64.1285
	parac + extracto 250mg/kg	70.00000(*)	21.75862	.003	25.8715	114.1285
	parac + extracto 500mg/kg	1.25000	21.75862	.955	-42.8785	45.3785
parac + extracto 100mg/kg	control	67.50000(*)	21.75862	.004	23.3715	111.6285
	control negativo parac	127.50000(*)	21.75862	.000	-171.6285	-83.3715
	control positivo parac + sila	-20.00000	21.75862	.364	-64.1285	24.1285
	parac + extracto 250mg/kg	50.00000(*)	21.75862	.027	5.8715	94.1285
	parac + extracto 500mg/kg	-18.75000	21.75862	.395	-62.8785	25.3785
parac + extracto 250mg/kg	control	17.50000	21.75862	.427	-26.6285	61.6285
	control negativo parac	177.50000(*)	21.75862	.000	-221.6285	133.3715
	control positivo parac + sila	-70.00000(*)	21.75862	.003	-114.1285	-25.8715
	parac + extracto 100mg/kg	-50.00000(*)	21.75862	.027	-94.1285	-5.8715
	parac + extracto 500mg/kg	-68.75000(*)	21.75862	.003	-112.8785	-24.6215
parac + extracto 500mg/kg	control	86.25000(*)	21.75862	.000	42.1215	130.3785
	control negativo parac	108.75000(*)	21.75862	.000	-152.8785	-64.6215
	control positivo parac + sila	-1.25000	21.75862	.955	-45.3785	42.8785
	parac + extracto 100mg/kg	18.75000	21.75862	.395	-25.3785	62.8785
	parac + extracto 250mg/kg	68.75000(*)	21.75862	.003	24.6215	112.8785

* La diferencia entre las medias es significativa al nivel .05

Variable dependiente: GPT

(J) grupos	Mean Difference (I-J)	Std. Error		Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
control	control negativo parac	168.89000(*)	26.92262	.000	223.4916	114.2884
	control positivo parac + sila	120.00000(*)	26.92262	.000	174.6016	-65.3984
	parac + extracto 100mg/kg	-77.77857(*)	26.92262	.007	132.3802	-23.1770
	parac + extracto 250mg/kg	-44.44429	26.92262	.107	-99.0459	10.1573
	parac + extracto 500mg/kg	102.22286(*)	26.92262	.001	156.8245	-47.6213
control negativo parac	control	168.89000(*)	26.92262	.000	114.2884	223.4916
	control positivo parac + sila	48.89000	26.92262	.078	-5.7116	103.4916
	parac + extracto 100mg/kg	91.11143(*)	26.92262	.002	36.5098	145.7130
	parac + extracto 250mg/kg	124.44571(*)	26.92262	.000	69.8441	179.0473
	parac + extracto 500mg/kg	66.66714(*)	26.92262	.018	12.0655	121.2687
control positivo parac + sila	control	120.00000(*)	26.92262	.000	65.3984	174.6016
	control negativo parac	-48.89000	26.92262	.078	103.4916	5.7116
	parac + extracto 100mg/kg	42.22143	26.92262	.126	-12.3802	96.8230
	parac + extracto 250mg/kg	75.55571(*)	26.92262	.008	20.9541	130.1573
	parac + extracto 500mg/kg	17.77714	26.92262	.513	-36.8245	72.3787
parac + extracto 100mg/kg	control	77.77857(*)	26.92262	.007	23.1770	132.3802
	control negativo parac	-91.11143(*)	26.92262	.002	145.7130	-36.5098
	control positivo parac + sila	-42.22143	26.92262	.126	-96.8230	12.3802
	parac + extracto 250mg/kg	33.33429	26.92262	.224	-21.2673	87.9359
	parac + extracto 500mg/kg	-24.44429	26.92262	.370	-79.0459	30.1573
parac + extracto 250mg/kg	control	44.44429	26.92262	.107	-10.1573	99.0459
	control negativo parac	124.44571(*)	26.92262	.000	179.0473	-69.8441
	control positivo parac + sila	-75.55571(*)	26.92262	.008	130.1573	-20.9541
	parac + extracto 100mg/kg	-33.33429	26.92262	.224	-87.9359	21.2673
	parac + extracto 500mg/kg	-57.77857(*)	26.92262	.039	112.3802	-3.1770
parac + extracto 500mg/kg	control	102.22286(*)	26.92262	.001	47.6213	156.8245
	control negativo parac	-66.66714(*)	26.92262	.018	121.2687	-12.0655
	control positivo parac + sila	-17.77714	26.92262	.513	-72.3787	36.8245
	parac + extracto 100mg/kg	24.44429	26.92262	.370	-30.1573	79.0459
	parac + extracto 250mg/kg	57.77857(*)	26.92262	.039	3.1770	112.3802

* La diferencia entre las medias es significativa al nivel .05

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	OBJETIVOS	PROBLEMA	ANTECEDENTES	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Efecto antioxidante y hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis genistelloides</i> "quimsa cuchu" de Ayacucho – 2008.	<p>GENERAL</p> <ul style="list-style-type: none"> - Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis genistelloides</i> "quimsa cuchu" como antioxidante y hepatoprotector. <p>ESPECÍFICO</p> <ul style="list-style-type: none"> - Realizar el Screening fitoquímico de <i>Baccharis genistelloides</i> "quimsa cuchu". - Determinar la capacidad antioxidante a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis genistelloides</i>. - Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis genistelloides</i> que muestre mejor efecto hepatoprotector. - Comparar la actividad antioxidante y hepatoprotector con los estándares de Vitamina C y Silimarina respectivamente. - Determinar la toxicidad aguda (DL50). 	<p>¿Tendrá efecto antioxidante y hepatoprotector el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis genistelloides</i> "quimsa cuchu"?</p>	<p>ASPECTOS BOTÁNICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Baccharis genistelloides</i> (clasificación taxonómica) • Descripción botánica • Hábitad y distribución geográfica • Formas de utilización: <ul style="list-style-type: none"> • composición química y valor nutricional • Parte utilizada. <p>FLAVONOIDES: Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc.</p> <p>EL HIGADO: El hígado es el órgano interno más grande e importante del cuerpo, se encarga de cerca de 500 funciones orgánicas. Juega un papel en la digestión, en el metabolismo del azúcar y las grasas, e incluso en el sistema inmunitario.</p> <p>HIGADO Y FÁRMACOS: Siendo el principal órgano metabolizador de fármacos, la mayoría de estos pasan por el hígado para ser biotransformados en sustancias que se excretan con facilidad.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de la planta de <i>Baccharis genistelloides</i> "quimsa cuchu" tiene actividad antioxidante y hepatoprotectora.</p>	<p>Variable Independiente: Las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de "Baccharis genistelloides".</p> <p>Indicadores: 100 mg/Kg, 250 mg/Kg y 500 mg/Kg.</p> <p>Variables Dependientes: Actividad antioxidante y hepatoprotectora</p> <p>Indicadores: Secuestro del DPPH. Variación de los niveles de transaminasas (GOT y GPT) y evaluación del daño hepático.</p>	<p>Población: <i>Planta de Baccharis genistelloides</i> quimsacucho del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, región de Ayacucho.</p> <p>Muestra: 2 kilogramos de la planta de <i>Baccharis genistelloides</i> "quimsacucho".</p> <p>Método: - Tamizaje Fitoquímico - Determinación de la actividad antioxidante mediante la captación del radical libre DPPH - Determinación del efecto hepatoprotector: <ul style="list-style-type: none"> • Medición de la actividad de GOT y GPT sérica en lesión de hepatocito inducido por paracetamol. • Evaluación de los resultados. </p>

Efecto antioxidante y hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".

Ayacucho – 2008.

Yeleni K. COLLAZOS¹, Mg Enrique J. AGUILAR², Msc. León, VILLEGAS³¹Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica – UNSCH.²Laboratorio de Farmacia y Bioquímica – UNSCH.³Laboratorio de Investigación y Desarrollo -UPCH

RESUMEN

El estudio del presente trabajo se realizó en los Laboratorios de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia de la ciudad de Lima, donde se determinó el efecto antioxidante y hepatoprotector de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu", recolectadas en el distrito de Vinchos, región de Ayacucho.

La muestra recolectada se sometió inicialmente a un Screening Fitoquímico, encontrando metabolitos secundarios como son los flavonoides, taninos y fenoles, destacando su presencia por su acción farmacológica. En la determinación del Efecto Antioxidante por el método de secuestro del radical libre DPPH, se obtuvo un Porcentaje de Inhibición más alto de 76.81%, a una concentración de extracto hidroalcohólico de 1000ug/mL, usando como patrón a la vitamina C. En la evaluación del efecto hepatoprotector mediante la determinación enzimática del Glutamato-Oxalacetato-Transaminasa (GOT) y Glutamato-Piruvato-Transaminasa (GPT), se utilizó 42 ratas albinas de la cepa Holtzman, distribuidos aleatoriamente en 6 grupos de 7 ratas cada uno, sometidos a un modelo experimental in vivo de hepatotoxicidad con paracetamol; posteriormente se obtuvo suero sanguíneo de las venas laterales del cuello, este se sometió a un análisis y se obtuvieron los valores de transaminasa GOT y GPT, en los resultados se observaron que los niveles de ambas transaminasas disminuyeron considerablemente, mostrando el *Baccharis genistelloides* la actividad más alta a la concentración de 250mg/Kg de extracto, el cual posee mejor efecto hepatoprotector. En la determinación de la Toxicidad Aguda (DL₅₀), el *Baccharis genistelloides* no presentó muestra de toxicidad siendo inocuo a estas dosis.

Palabras clave: antioxidante, hepatoprotector, nivel de transaminasas, *Baccharis genistelloides*.

ABSTRACT

The study of this work was carried out in research and development laboratories of the Faculty of Sciences and Philosophy at the University Peruana Cayetano Heredia in Lima, which determined the effect of antioxidant and hepatoprotective *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu" collected in Vinchos in the district, a region of Ayacucho.

The sample collected was subjected to an initial screening phytochemicals, finding secondary metabolites such as flavonoids, tannins and phenols, highlighting their presence by their pharmacological action. In determining the antioxidant effects of kidnapping by the method of DPPH free radical, was a higher percentage of inhibition of 76.81% at a concentration of hydroalcoholic extract of 1000ug/mL, using as a standard vitamin C. The evaluation of hepatoprotective effect through the identification of the enzyme glutamate-Oxalacetato transaminase (GOT) and glutamate-Piruvato transaminase (GPT), was used 42 albino rats of Holtzman strain distributed randomly into 6 groups of 7 rats each, subjected to an experimental model in vivo hepatotoxicity of paracetamol, then serum was obtained from the veins of the neck, this was subject to analysis and obtained the values of GOT and GPT transaminase, the results were that levels of both transaminases decreased significantly, showing the *Baccharis genistelloides* activity to the highest concentration of 250mg/Kg extract, which has better hepatoprotective effect. In the determination of acute toxicity (LD₅₀), the *Baccharis genistelloides* presented no sign of toxicity at these doses are safe.

Keywords: antioxidant, hepatoprotective, transaminase level, *Baccharis genistelloides*.

INTRODUCCIÓN

El interés del estudio científico de nuestra flora peruana, se ha incrementado debido a que nuestros recursos naturales son muy variados, el trabajo de investigación lleva consigo el poder demostrar las propiedades medicinales y así tener una alternativa en la utilización de agentes terapéuticos debido a que en la actualidad las personas recurren cada vez más a la fitoterapia para el tratamiento de sus afecciones (Chávez y col., 1996).

Cuando se estudia un determinado compuesto con el objeto de verificar si el mismo podría actuar como antioxidante, corresponde discriminar muy bien entre la actividad antioxidante y las propiedades antioxidantes; o lo que es lo mismo, la capacidad de retardar la degradación oxidativa y la reactividad del compuesto en estudio con radicales libres que puedan propagar una reacción de este tipo. Siendo susceptibles al daño oxidativo órganos como el hígado, estómago, pulmón, corazón (Urquiaga y col. 2000).

La degeneración y envejecimiento celular son procesos normales del organismo, pero se buscan detener estos procesos a veces acelerados en algunas personas, pues nos hace vulnerables a enfermedades que nos restan fortaleza y la expectativa de vida.

El hombre posee órganos que cumplen funciones importantes para el buen funcionamiento del organismo, como es el hígado una glándula más grande del cuerpo que cumple procesos metabólicos, donde se metabolizan

la mayor parte de sustancias ingeridas como medicamentos y químicos (alcohol), este último ocasiona efectos nocivos o irreversibles provocando alguna alteración hepática. Por ello el interés de buscar agentes terapéuticos que cumplan la función hepatoprotectora, es decir que protejan el hígado de los efectos nocivos de hepatotoxinas que el hombre ingiere, y como poder contrarrestar las alteraciones en los mecanismos de defensa antirradicalario que es de suma importancia (Highleyman y Franciscus, 2008)

Los flavonoides son conocidos por sus propiedades antioxidantes y de su uso como hepatoprotector, conteniendo un grupo extenso de metabolitos secundarios ampliamente distribuidos y comunes en el reino vegetal, dotándole de estas propiedades a la especie de *Baccharis genistelloides* por su riqueza en flavonoides (Guerra, 1995) (Martínez y col., 2002).

El *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu" es utilizada tradicionalmente como purgativo a nivel del hígado y vesícula, eficaz en desordenes digestivos, en gastroenteritis y actualmente está siendo conocido por su propiedad antioxidante, es por ello que se busca contribuir como alternativa terapéutica garantizando el adecuado uso y manejo de la medicina tradicional (Arroyo y col., 2000) (Fernández y Nieto, 1982).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación.

El trabajo de investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la U.P.C.H. en los meses de Abril a Agosto del 2008, en la ciudad de Lima.

Correspondencia:

Yeleni Collazos (yeleni_cm@yahoo.es)

Fac. Cs. Biológicas UNSCH, Ciudad Universitaria, Av. Independencia s/n.

Telf.: (066) 812510 anexo 145

Biounsch_decano@latinmail.com

Población.

Baccharis genistelloides “quimsa cuchu” del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, región de Ayacucho.

Muestra.

Se colectaron aproximadamente 2 Kg. de la parte aérea de *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu” en los alrededores del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, región de Ayacucho, ubicada a 3450 m.s.n.m., durante los meses de febrero y marzo del 2008.

Metodología.

Preparación del extracto hidroalcohólico

La planta se secó a la sombra, con adecuada ventilación y se molieron en un molino de cuchillas hasta polvo fino. Se peso 1 Kg. del material vegetal y se extrajeron con etanol al 80% mediante maceración por una semana y con agitación permanente. Posteriormente se procedió al filtrado y seguidamente se concentro por medio de un rotavapor a temperatura < 40° C, a sequedad.

Screening Fitoquímico del *Baccharis genistelloides*

La identificación de metabolitos secundarios se efectuó de manera cualitativa empleando reacciones de coloración, descrita según el procedimiento de Lock (1994).

Determinación de la Actividad Antioxidante mediante la captación del Radical Libre DPPH

Para la determinación de la actividad antioxidante se procede a la realización de los tratamientos:

Tratamiento 1: Control

Tratamiento 2: Extracto Hidroalcohólico 31.25 ug/mL

Tratamiento 3: Extracto Hidroalcohólico 62.5 ug/mL

Tratamiento 4: Extracto Hidroalcohólico 125 ug/mL

Tratamiento 5: Extracto Hidroalcohólico 250 ug/mL

Tratamiento 6: Extracto Hidroalcohólico 500 ug/mL

Tratamiento 7: Extracto Hidroalcohólico 1000 ug/mL

Tratamiento 8: Control positivo (Vitamina C) 0.14 ug/mL

Se trabajo por triplicado, se tomo y evaluó la lectura de la absorbancia a 517nm como indica el diseño experimental.

Reacci.	T1 (mL)	T2 (mL)	T3 (mL)	T4 (mL)	T5 (mL)	T6 (mL)	T7 (mL)	T8 (mL)
DPPH	2	2	2	2	2	2	2	2
Muest.	--	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	--
Vital. C	--	--	--	--	--	--	--	0.05
Etanol	0.05	--	--	--	--	--	--	--

> Cálculo del porcentaje de inhibición:

El porcentaje, indica la capacidad de captación de los radicales libres de una la muestra comparativamente con el estándar (vitamina C), según la formula:

$$\% \text{INHIBICIÓN} = \left[\frac{A_0 - A_e}{A_0} \right] \times 100$$

Donde:

A₀ = Absorbancia sin extracto.

A_e = Absorbancia con extracto o estándar.

Determinación de la Actividad Hepatoprotectora

Se utilizaron 42 ratas machos de la cepa Holtzman con peso entre 190 a 250g, 16 horas antes de realizar el experimento los animales fueron sometidos a ayuno con libre disponibilidad de agua.

Los animales se pesaron y separaron en 6 grupos experimentales de 7 ratas cada uno:

- El grupo A, recibe el 2% de Carboximetil celulosa (CMC), a una dosis de 10 mL /Kg., por vía oral, considerando como control negativo.
- El grupo B, recibió el Paracetamol (600 mg/Kg en 2% de CMC, a dosis de 10 mL/Kg), vía oral, considerando como grupo testigo.

- El grupo C, recibió Silimarina (25 mg/Kg en 2% de CMC, a dosis de 10mL/Kg), vía oral 2 horas después de administrado el Paracetamol considerado como grupo control positivo.
- El grupo D, recibió extracto hidroalcohólico 100 mg/Kg, en 2% de CMC, a dosis de 10 mL/Kg.
- El grupo E, recibió extracto hidroalcohólico 250 mg/Kg, en 2% de CMC, a dosis de 10 mL/Kg.
- El grupo F, recibió extracto hidroalcohólico 500 mg/Kg, en 2% de CMC, a dosis de 10 mL/Kg.

El extracto hidroalcohólico a diferentes dosis se administró por vía oral 2 horas después de administrar el paracetamol, pasado las 24 horas de administrado el paracetamol las ratas fueron sacrificadas.

Para la estimación de los valores séricos, se obtuvo sangre de las venas laterales del cuello. Las muestras obtenidas se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos, finalmente se determina en suero: Transaminasa Oxalacética (GOT), Transaminasa Pirúvica (GPT).

Determinación de la Toxicidad Aguda DL50

Se emplearon 30 ratas machos de la Cepa Holtzamn; se evaluó el efecto del extracto hidroalcohólico administrado por vía oral, los animales se encontraban entre 220g - 230g de peso, los cuales fueron divididos en 6 grupos, cada grupo consta de 5 ratas, siendo uno de ellos el grupo control, las dosis variadas de extracto hidroalcohólico (0.250 g/Kg, 0.500 g/Kg, 1 g/Kg, 2 g/Kg, 5 g/Kg) fueron administrados por vía oral empleando una sonda nasogástrica metálica. Las diluciones del extracto fueron realizadas con agua destilada. La mortalidad fue observada hasta las 72 horas, tiempo en el cual los animales tuvieron acceso a comida y agua normalmente.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico los resultados fueron procesados y expresados como la media +- error estándar. Así mismo, se realizó pruebas estadísticas de ANOVA y TUKEY para ver la significancia de los resultados (p<0.05).

RESULTADOS.

Cuadro Nº 02: Metabolitos secundarios presentes en el extracto etéreo, alcohólico y acuoso del *Baccharis genistelloides* “quimsa cuchu”.

METABOLITO SECUNDARIO	ENSAYO (Rx.)	E.Et.	E.A.	E.Ac.
Aceites y grasas	Sudán III	+++	--	--
Alcaloides	Dragendorff, Mayer, Wagner.	--	-	-
Antraquinonas	Bomtrager	--	++	--
Azúcares reductores	Fehling	--	++	++
Flavonoides	Shinoda	--	+++	++
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	--	+	--
Lactonas y cumarinas	Baljet	+	+	--
Mucilagos	Mucilagos	--	--	-
Principios Amargos	Principios amargos	--	--	++
Resinas	Resinas	--	++	--
Saponinas	Espuma	--	++	+++
Taninos y fenoles	Tricloruro férrico	--	+++	++
Triterpenos y esteroides	Lieberman-Burchard	+	+	--

Rx : Reacción
 (+) : Positivo
 (-) : Negativo
 (*) : Leve
 (++) : Moderado
 (+++) : Fuerte

E.Et.: Extracto etéreo
 E.A.: Extracto alcohólico
 E.Ac.: Extracto acuoso
 (--): Ensayo no realizado

Cuadro Nº 03: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico al 80% del *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO(Rx)	Ext. Hid.
Alcaloides	Dragendorff, Mayer, Wagner.	-
Antraquinonas	Bomtrager	+
Flavonoides	Shinoda	+++
Lactonas y cumarinas	Baljet	++
Taninos y fenoles	Tricloruro férrico	+++
Triterpenos y esteroides	Lieberman-Burchard	+
Saponinas	Espuma	+++

Rx : Reacción
 (+) : Positivo E.El.: Extracto etéreo
 (-) : Negativo E.A.: Extracto alcohólico
 (+) : Leve E.Ac.: Extracto acuoso
 (++) : Moderado
 (+++) : Fuerte

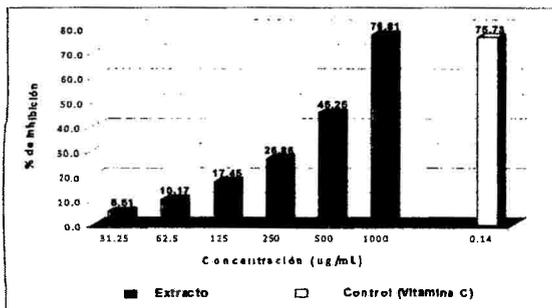


Gráfico Nº 01. Efecto antioxidante expresado en el porcentaje de inhibición de radicales libres con respecto a la concentración del *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".

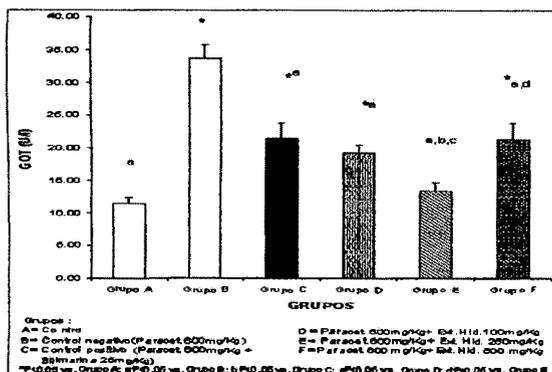


Gráfico Nº 02. Niveles de GOT (U/L) VS tratamientos, en la Evaluación del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".

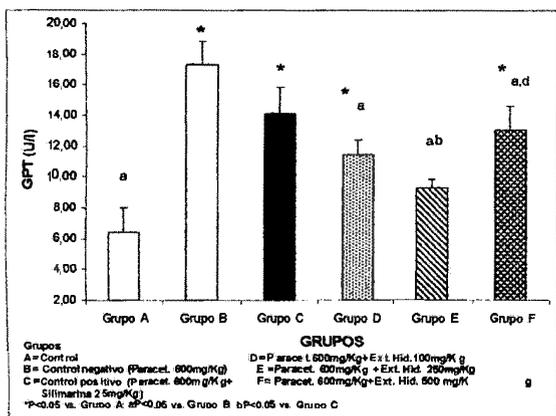


Gráfico Nº 03. Niveles de GPT (U/L) VS tratamientos en la Evaluación del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".

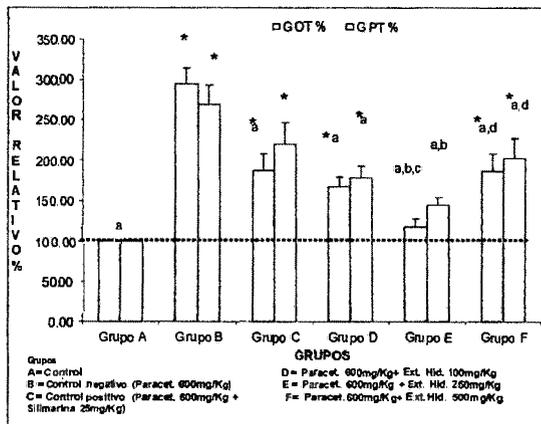


Gráfico Nº 04. Niveles de GOT (U/L) y GPT (U/L) en los tratamientos luego de la evaluación del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu".

Determinación de la Dosis Letal Media (DL50)

La dosis variable del extracto hidroalcohólico, diluidos en agua fueron de 0.250 g/Kg, 0.500 g/Kg, 1 g/Kg, 2 g/Kg, 5 g/Kg de ratón, inoculados por vía oral en un volumen de 1 mL, no mostraron mortalidad a las 24, 48 y 72 horas. Tampoco se observó algún efecto adverso durante el periodo de observación

DISCUSIÓN

En el Cuadro Nº 01, se observa el screening fitoquímico del *Baccharis genistelloides* "quimsa cuchu", encontrándose en el extracto etéreo la presencia de aceites y grasa en gran cantidad, al respecto Kuklinski (2000), menciona que los aceites poseen solubilidad en dicho extracto coincidiendo con los resultados obtenidos; así mismo, se encontró moderadamente lactonas y cumarinas que de igual forma Kuklinski (2000) señala que dichas estructuras se localizan casi de forma exclusiva en la familia de las Asteráceas. En el extracto alcohólico y acuoso se encontraron los flavonoides, taninos, fenoles y saponinas en gran cantidad; la presencia de antraquinonas, lactonas y cumarinas, principios amargos se reportan en moderada presencia, glicósidos cardiotónicos, triterpenos y esteroides en leve presencia.

En el Cuadro Nº 02, muestra los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del *Baccharis genistelloides*, cuya identificación se realizó con la finalidad de poder corroborar que en dicho extracto utilizado en la investigación, se pudo extraer la mayor cantidad de metabolitos secundarios tal es así que destaco la presencia de flavonoides, taninos y fenoles en gran cantidad, lactonas y cumarinas en moderada cantidad.

Investigaciones como de Gonzaga y col. (2005) señala, que químicamente especies del género *Baccharis* contiene los mismos compuestos, pero seguramente difieren en la naturaleza química de los mismos, es así que los principales metabolitos presentes en este género son los flavonoides de tipo flavanona y flavona; y los diterpenos de núcleo kaurano, clerodanos y labdano. Así mismo, Gonzaga y col. (2005) refiere que el *Baccharis genistelloides*, posee en su composición: 10 Flavonas, 1 Flavonona y 10 Diterpenos del núcleo Clerodano. Atribuyéndole las propiedades biológicas de esta especie a los flavonoides y los diterpenos.

Kuklinski (2000), refiere que los flavonoides poseen actividad farmacológica variada como, antiinflamatorias, antihepatotóxicas y antirradicales libres, y así como, los taninos poseen propiedades antioxidantes por que son capaces de captar radicales libres e inhiben la

peroxidación lipídica como también inhiben la autooxidación del ácido ascórbico (Vitamina C).

El Gráfico N° 01, muestra la 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 el *Baccharis genistelloides* a concentración de 1000 µg/mL presentó el porcentaje de inhibición más alta, 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 obtuvieron en el trabajo presentado por Casanova (2002), donde también señala que el porcentaje de inhibición de radicales libres va en función directa con la concentración de extracto.

Martínez y col. (2002), señala que la capacidad de los polifenoles vegetales para actuar como antioxidantes se debe a que pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; que iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres.

La acción neutralizadora de los Flavonoides sobre los radicales libres, según Villar del Fresno (1994), se debe a la heterogeneidad de los distintos tipos de radicales libres (anión superóxido, radical hidroxilo, etc.), es así que diferentes grupos interaccionan con el Radical libre DPPH, lo que se utiliza para poner de manifiesto de manera general, su actividad antirradicalaria. Así mismo Villar del Fresno (1994) señala que existen condiciones estructurales que favorecen la actividad antirradicalaria, y eso hace que los Flavonoides y sobre todo, Flavonoles, se muestren como los más activos; aunque también existen otros flavonoides que no cumplen estas condiciones (derivados del Flavano) pero poseen actividad antirradicalaria.

De la misma forma podemos observar el porcentaje de inhibición del extracto con el control (Vitamina C), donde la concentración más alta del extracto presenta capacidad neutralizadora similar al del estándar, el resultado obtenido permite demostrar que el extracto presenta un comportamiento semejante al de la Vitamina C, aunque se utilizaron concentraciones bajas de estándar ya que se sabe que este es un compuesto químicamente puro y de actividad antioxidante conocida. Se puede indicar que el extracto de *Baccharis genistelloides* posee una capacidad de capturar radical DPPH, lo que podría convertirse en un extracto candidato para el aislamiento de sustancias activas como antioxidantes, puesto que este caso la actividad observada equivale al efecto total (sinérgico o no) de la mezcla.

Para la evaluación de la actividad hepatoprotectora de *Baccharis genistelloides* se empleó un modelo experimental de hepatotoxicidad en ratas tratadas con paracetamol (Song-Chow, 1994), donde se mide los niveles séricos enzimáticos de GPT y GOT. Debido a que las transaminasas GOT y GPT son enzimas que se encuentran en los hepatocitos, siendo utilizados como marcadores de lesión hepática (Restrepo, 1994).

En el Gráfico N° 02, se presentan los valores promedio de GOT para cada grupo de experimentación al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico del *Baccharis genistelloides*. El grupo que recibe paracetamol a dosis de 600 mg/Kg, reporta 33.7 ± 5.68 U/L observándose un incremento en los valores de GOT de 22.30 U/L en comparación con el grupo control, que fue de 11.4 ± 2.57 U/L, al analizar mediante la prueba de Tukey de comparaciones múltiples (Anexo N° 04) 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. El grupo que

recibió el fármaco silimarina (25 mg/Kg) 2 horas después de administrados la sobredosis de paracetamol, reportó 21.4 ± 6.0 U/L observándose diferencia significativa con respecto al grupo control negativo paracetamol ($p < 0.05$) con una disminución de 12.3 U/L.

Analizando los niveles de GOT de los grupos tratados con el extracto a dosis de 100 y 250 mg/Kg 2 horas después de administrado el paracetamol, se aprecia diferencias significativas respecto al grupo control negativo paracetamol ($p < 0.05$). La dosis de 100 mg/Kg de extracto reporta 19.1 ± 3.29 U/L disminuyendo en 14.6 U/L, la dosis de 250 mg/Kg reportó 13.4 ± 2.99 U/L disminuyendo en 20.3 U/L respecto al grupo control negativo paracetamol. Mientras que la dosis de 500 mg/Kg reporta 21.3 ± 6.47 U/L, disminuyendo en 12.4 U/L respecto al grupo control negativo paracetamol.

En el Gráfico N° 03, se muestra los valores de GPT, donde el grupo B que recibió paracetamol reportó 17.3 ± 4.15 U/L observándose un incremento de los valores en 10.9 U/L respecto al control (6.4 ± 4.24 U/L) observándose diferencia significativa $p < 0.05$ (Anexo N° 05). El grupo C que recibió silimarina 2 horas después de generado la toxicidad con paracetamol reportó 14.1 ± 4.49 U/L aumentando en 7.7 U/L respecto al control, no siendo estadísticamente significativo respecto al grupo paracetamol. Los grupos D y F que recibieron 100 y 500 mg/Kg del extracto reportaron 11.4 ± 2.57 U/L y 13.0 ± 4.08 U/L disminuyendo en 5.9 y 4.3 U/L respectivamente, presentando diferencia significativa respecto al grupo paracetamol. El grupo E tratado con 250 mg/Kg de extracto reportó 9.3 ± 1.50 U/L presentando diferencia significativa respecto al grupo control positivo, disminuyéndose los niveles de toxicidad superiores al grupo C de silimarina.

De acuerdo al análisis reportado para ambas enzimas observamos en el Gráfico N° 04 los valores de GOT y GPT expresados en porcentajes relativos en comparación con el grupo control (A), donde se muestra que tanto GOT y GPT presentan un similar comportamiento que los valores absolutos.

Donde la generación de especies reactivas con el paracetamol muestra diferencia estadísticamente significativa en todos los grupos experimentales, correspondiendo el valor más bajo para el grupo E que recibió tratamiento a la concentración de 250 mg/Kg de extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides*, disminuyendo los valores de GOT y GPT, resultado que indica que la planta a esta dosis presenta mayor actividad y teniendo así como indicador a ambas enzimas. En tanto que la concentración de 500 mg/Kg de extracto no presenta mayor efecto, refiere Rojas (2002), que dicho comportamiento se puede deber que no solo se encuentran flavonoides en el extracto sino que hay presencia de una mezcla de metabolitos secundarios que pueden influenciar en la actividad y que a mayor concentración de extracto no siempre se ejerce mayor efecto.

Observando el comportamiento de las transaminasas podemos decir que el *Baccharis genistelloides* presenta efecto hepatoprotector a la concentración de 250 mg/Kg, atribuyéndose este efecto refiere Palacios (1997) y Kuklinski (2000) a la presencia de metabolitos secundarios como los flavonoides y taninos en la planta. La evaluación de la actividad tóxica del extracto hidroalcohólico del *Baccharis genistelloides* por vía oral, es indispensable para considerar que el tratamiento aplicado es seguro. La actividad tóxica define la toxicidad intrínseca de la planta, predice el daño de una especie, determina la especie más susceptible, identifica los órganos blancos, informa sobre el riesgo de la exposición aguda así como predice el tratamiento de una sobredosis.

La susceptibilidad de los animales de experimentación depende del tipo de sustancia a aplicar, como el caso de las ratas de laboratorio son bastante sensibles a

sustancias tóxicas presentes en las plantas. La administración de los extractos en cantidades crecientes permite evaluar los límites de toxicidad, los ensayos se prueban por dos vías, varias dosis y ambos sexos. Teniendo en cuenta factores como edad, sexo, peso, especie, condiciones ambientales, acceso a la comida y al agua. Señala Cáceres (1992), que la observación que se efectúa incluyen relación-dosis respuesta, síntomas y signos tóxicos, conducta del animal durante el período (de observación) tiempo de muerte.

Para el análisis de la toxicidad efectuada por vía oral, el extracto fue inoculado a dosis variables de (0,250 g/Kg, 0,500 g/Kg, 1 g/Kg, 2 g/Kg, 5 g/Kg de rata). No presentó ninguna muestra de toxicidad, siendo su DL50 mayor de 5 g de extracto hidroalcohólico por kilogramo de rata.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, E., Anaya, B. y Díez, J. 2000. Efecto antioxidante de los extractos de *Oenothera rosea* "yawar soqo". FITO. 2000. Primer Congreso Peruano de Plantas Medicinales. Lima.
- Arroyo, J.; Ráez, E.; Rojas, J.; Condori, M.; Barreda, M. y Chávez, N. 2000. Efecto de la asociación de *Lavatera asurgentiflora* (malva), *Psoralea glandulosa* (culén) y *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre úlcera gástrica en ratas. Primer Congreso Internacional FITO 2000. Primer Congreso Peruano de Plantas Medicinales y Fitoterapia. Instituto de Fitoterapia Americano. Libro de resúmenes. Pág. 161-164-Lima.
- Asociación argentina de Fitomedicina Carqueja. Editorial de Buenos Aires de Argentina. URL:www.plantas medicinales.org/carqueja-muestra.htm.
- Cáceres, A. 1996. Plantas medicinales de Guatemala. Editorial Universidad San Carlos. Guatemala.
- Cárdenas, E. 2000. Sustancias Flavonoides. Revisión temática, antioxidantes y calidad de vida. URL:www.antioxidantes .com.ar/12/indice Art Total/html.
- Casanova, G. 2004. Actividad antioxidante y antiulcerosa del extracto acuoso liofilizado de *Calceolaria cuneiformes* R & P subsp. *Cuneiformes* "ayapa zapatum". Tesis Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
- Castro, Y. 2001. Evaluación de la actividad citoprotectora gástrica de *Baccharis genistelloides* "kimsacucho" Ayacucho-2001. Tesis Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
- Chávez, R.; Plaza, A. y Lock, O. 1996. Antioxidantes de origen vegetal publicada por la Sección de Química del Departamento de Ciencias de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Revista de Química 10(1):71-101. Lima.
- Común, P. 2001. Taxonomía de las plantas medicinales de mayor uso comercializadas en la ciudad de Ayacucho. Tesis Químico Farmacéutico Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
- De Arruda Camargo, M. 1998. Plantas Medicinales e de rituais afro-brasileiros. Estudio etnofarmacobotánico. Asociación Argentina de Fitomedicina Carqueja. Editorial. Universidad de Buenos Aires. URL:www.plantasmedicinales.org/carqueja-muestra.htm.
- De Aumada, J.; Santana, M. y Serrano, J. 2003. Farmacología Práctica, para las diplomaturas de ciencias de la salud. Ediciones Dias de Santos S.A. Madrid.
- Fernández, M. y Nieto, A. 1982. "Plantas Medicinales". Ediciones Universidad de Navarra. España.
- Font Quer. 1981. Plantas Medicinales el Dioscorides Renovado. Séptima edición. Editorial Labor. Barcelona-España.
- Gené, R.; Cartañá, C.; Adzet, T.; Martín, C.; Parelló, T y Cañiguala, S. 1996. Antiinflammatory of *Baccharis trimera*. Identification of its active constituent. *Planta Med.*1996 Jun;62 (3):232-235. Brasil.
- Gonzaga, L.; Costa, I. y Geraldo, M. 2005. Género *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos químicos, Económicos y Biológicos. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 1, 85-94.
- Guerci, A. 1994. Métodos de análisis clínico y su interpretación. Editorial El Ateneo. Cuarta edición. Buenos Aires.
- Guerra, D. 1995. Aislamiento y elucidación estructural de Flavonoides de *Baccharis genistelloides*. Tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- Highleyman, L. y Franciscus, A. 2008. El Hígado. HCSP. Hoja Informativa. Versión 1.0. Editorial Hepatitis C Support Project. URL:www.hcvadvocate.org/español.asp.
- Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Editorial Ediciones Omega S.A Barcelona-España.
- Lock, O. 1994. "Investigación Fitoquímica". Pontificia Universidad Católica del Perú. Segunda edición. Fondo Editorial. Lima.
- Mendoza, J. 2008. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epl. wayra muña en ratas. Tesis Químico Farmacéutico Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
- Miranda, M. (1996). Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad de la Habana. Cuba.
- Palacios, J. 1997. Plantas medicinales nativas del Perú. CONCYTEC. Lima.
- Pérez de Alejo, J.; Sánchez, N. y Bu Wong, M. 1998. Actividad antioxidante *in vivo* e *in vitro* de un extracto natural de origen vegetal. La sustancia natural PFL. *Rev Cubana Plant Med*;3(3):19-22.
- Restrepo, J. 1994. Fundamentos de Medicina-Gastroenterología-Hepatología. Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB). 3ra edición. Medellín-Colombia.
- Rojas, A. 2001. Evaluación del efecto hepatoprotector de extractos acuosos de *Oenothera rosea* "yawar soqo". Tesis Químico Farmacéutico. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
- Sotolongo, M.; Miranda, R.; Pérez de Alejo, L. y Rodríguez, G. 1997. Actividad hepatoprotectora del "ergopanin" melito. (Raintree Nutrition, Inc.). *Rev Cub Med Mil* v.26 n.2 Ciudad de la Habana jul.-dic.
- Song Chow, L. 1994. The Evaluation of hepatoprotective effects of Taiwan Folk medicine "Teng-Khia-U" *Journal of Ethnopharmacology* 45. U.S.
- Troncoso, L. y Guija, E. 2007. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. An. Fac. Med. 68(4). Lima.
- Urquiza, I. y Leighton, F. 2000. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress URL:www.bio.puc.cl/vinsalud/index.htm.[on line]. 2000, vol.33, No. 2 [citado 05 Enero2009]p. 55-64.
- Villar Del Fresno, M. 1999. Farmacognosia General. Editorial síntesis. España; 209-217. URL:www.rain-tree.com/carqueja.htm
- URL:www.bio.puc.cl/vinsalud/index.htm.

Acta de sustentación de tesis

R.D. N° 025-2009-FCB-D

Bachiller: Yeleni Ketty Collazos Medrano

En la ciudad de Ayacucho, a los seis días del mes de febrero del dos mil nueve, a las cuatro de la tarde; en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas; se reunieron los miembros del jurado calificador, presidido por el M.B. José Yarlequé Mujica, e integrado por el Mg. José Diez Macavilca; Mg. Enrique Aguilar Felices; Mg. Johnny Aldo Tinco Jayo; Mg. Martha Romero Viacava; actuando como secretario docente el Mg. Marco Aronés Jara; para la sustentación de la tesis titulada: Efecto antioxidante y hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Baccharis genistelloides* "quimsacucho". Ayacucho-2008; presentado por la Bachiller Yeleni Ketty Collazos Medrano; quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

El Presidente invita al Secretario Docente a dar lectura de la documentación pertinente, después del cual pide que la sustentante de inicio a la exposición del trabajo de investigación en un tiempo no mayor a cuarenta y cinco minutos; sin hacer lectura directa del material audiovisual.

Culminada la exposición el Presidente da inicio a las observaciones y/o aclaraciones por parte de los miembros del Jurado Calificador.

En primer lugar participa la Mg. Martha Romero Viacava, observa errores de forma en algunas partes consignadas en el borrador. También que el trabajo se hizo con la parte aérea, en que meses y en que etapa de crecimiento se hizo la recolección; se recomienda que deba ser en la floración.

La primera recomendación no es pertinente. Las observaciones fueron aclaradas en su totalidad.

El Mg. José Diez Macavilca, resalta la investigación de una Asteracea, muy demandada por sus efectos. El metabolito más representativo son los Flavonoides y que pruebas se hizo para su identificación.

Seguidamente participa el Mg. Johnny Tinco Jayo. Hay observaciones plasmados en el borrador. Porqué evaluó estas dos actividades y cual es su relación; porque actúan a nivel celular y relación con los hepatocitos. En la fase I y II que ocurre con el paracetamol. Fue absuelto.

Que extracciones realizó para screening fotoquímico; con extracción etérea, alcohólica y acuosa. El cuadro dos especificar las pruebas que se hacen a cada extracto. Colocar las observaciones a cada prueba. En el gráfico 1, el efecto sería mejor a concentraciones mayores a 1000mg/mL.

Finalmente participa el asesor Mg. Enrique Aguilar Felices. La presencia de alcaloides esta descartada. Especificar la parte de la planta. En el gráfico 1, el proposito es llegar a un porcentaje cercano a la vitamina C.

Sugerir hacer más pruebas antioxidantes. En la DL50, no se calculó, pero como no hubo mortalidad y colocar que a las concentraciones evaluadas, no hubo mortalidad. Culminada esta etapa el Presidente invita a la sustentante y público en general a abandonar el auditorio para que los jurados deliberen y evalúen, del cual se desprenden:

Miembro del Jurado	Exposición	Rpta.a prgtas.	Promedio
Mg. Martha Romero Viacava	17,0	17,0	17,0
Mg. José Diez Macavilca	17,0	17,0	17,0
Mg. Johnny Tinco Jayo	17,0	17,0	17,0
Mg. Enrique Aguilar Felices	16,0	17,0	17,0
		Promedio	17,0

Resultado de la evaluación la sustentante obtuvo la nota de diecisiete (17,0) del cual dan fe los miembros del jurado estampando su firma al pie de la presente acta. Siendo las seis y cinco de la tarde se finaliza el acto académico.



Mg. Martha Romero Viacava
(Miembro)



Mg. José Díez Macavilca
(Miembro)



Mg. Johnny Tinco Jayo
(Miembro)



Mg. Enrique Aguilar Felices
(Miembro-Asesor)



M.B. José Yarlequé Mujica
(Presidente)



Mg. Marco Aronés Jara
(Secretario Docente)