

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



Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca". Ayacucho 2018.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR EL:

Bach. SANCHEZ ANAYA, Levi

Ayacucho - Perú

2019

A Dios por haberme dado la vida, a mi familia por el apoyo.

AGRADECIMIENTO

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

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

Al Q.F. Pablo Williams Común Ventura asesor del presente trabajo de investigación.

Al Q.F. Edwin C. Enciso Roca por el apoyo en el presente trabajo y conducción de la investigación

A las personas que me brindaron su apoyo para la conclusión del presente trabajo de investigación, cuyo resultado se plasma en este informe.

ÍNDICE

	Páginas
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1.1. Objetivos generales	2
1.1.2. Objetivos específicos	2
1.1.3 Hipótesis	2
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca”	9
2.3. Compuestos fenólicos	12
2.4. Actividad antioxidante	16
2.5. Efecto antioxidante de los fenoles	20
2.6. Evaluación de la actividad antioxidante por el método DPPH.	21
2.7. Evaluación de la actividad antioxidante por el método ABTS.	22
2.8. Evaluación de la actividad antioxidante por el método FRAP	23
III. MATERIALES Y MÉTODOS	25
6. Diseño experimental	32
7. Análisis de datos	32
IV. RESULTADOS	33
V. DISCUSIÓN	43
VI. CONCLUSIONES	51
VII. RECOMENDACIONES	53
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
IX. ANEXOS	61

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción.	19
Tabla 2. Clasificación de los antioxidantes, según origen.	20
Tabla 3 Tamizaje fitoquímico según Miranda.	26
Tabla 4. Fórmula para la elaboración de la crema del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de <i>B. salicifolia</i>	26
Tabla 5 Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca”: Ayacucho-2018	35
Tabla 6 características organolépticas, física y química de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018	36

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Algunos compuestos químicos presentes en el género <i>Baccharis</i> . a. terpinen-4-ol. b. spatulenol. c. bacchariol. d. ácido oleanólico	11
Figura 2. Estructura química de la 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides	13
Figura 3. Reducción del DPPH tras la adición de un ion hidrogeno	22
Figura 4. estructura de química del ABTS	22
Figura 5. Estructura química del FRAP	23
Figura 6. Equivalente Trolox (MoIET) de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" por el método DPPH. Ayacucho 2018.	37
Figura 7. Equivalente Trolox (MoIET) de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" por el método ABTS. Ayacucho 2018.	38
Figura 8. Equivalente Trolox (MoIET) de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" por el método FRAP. Ayacucho 2018.	39
Figura 9. Concentración de crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" que inhibe el 50% de radical DPPH (IC ₅₀). Ayacucho 2018.	40
Figura 10. Concentración de crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" que inhibe el 50% de radical ABTS (IC ₅₀). Ayacucho 2018.	41
Figura 11. Concentración de crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" que inhibe el 50% de radical FRAP (IC ₅₀). Ayacucho 2018.	42

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Certificado de identificación botánica de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca". Ayacucho 2018.	63
Anexo 2.	Fotografía de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" Ayacucho 2018.	64
Anexo 3	Metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico de las hojas de las hojas de de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" Ayacucho 2018.	65
Anexo 4	Crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" Ayacucho 2018.	66
Anexo 5.	Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" Ayacucho 2018.	67
Anexo 6	Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" Ayacucho 2018.	68
Anexo 7	Determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" Ayacucho 2018.	69
Anexo 8.	Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante (MoIET) por el método DPPH, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" Ayacucho 2018.	70

Anexo 9.	Prueba HSD-Tukey de la actividad antioxidante (MoIET) por el método DPPH, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	71
Anexo 10.	Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante (MoIET) por el método ABTS, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	72
Anexo11	Prueba HSD-Tukey de la actividad antioxidante (MoIET) por el método ABTS, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	73
Anexo 12.	Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante (MoIET) por el método FRAP, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	74
Anexo 13.	Prueba HSD-Tukey de la actividad antioxidante (MoIET) por el método FRAP, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	75
Anexo 14	Análisis de varianza (ANOVA) para actividad antioxidante (IC ₅₀) por el método DPPH, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	76
Anexo 15	Prueba HSD-Tukey para la actividad antioxidante (IC ₅₀) por el método DPPH, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	77

Anexo 16	Análisis de varianza (ANOVA) para la actividad antioxidante (IC ₅₀) por el método ABTS, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	78
Anexo 17	Prueba HSD-Tukey para la actividad antioxidante (IC ₅₀) por el método ABTS, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	79
Anexo 18	Análisis de varianza (ANOVA) para la actividad antioxidante (IC ₅₀) por el método FRAP, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	80
Anexo 19	Prueba HSD-Tukey para la actividad antioxidante (IC ₅₀) por el método FRAP, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> “chilca” Ayacucho 2018.	81
Anexo 20	Matriz de consistencia. Ayacucho 2018	82

RESUMEN

El uso de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" forma parte de la medicina tradicional peruana y de nuestra localidad ayacuchana. Investigaciones actuales buscan el desarrollo sostenible de nuevos compuestos activos con el fin de dar una terapia complementaria a la población. El estudio experimental, se basó principalmente en la formulación de una crema del extracto hidroalcohólico de las hojas de esta especie, a la cual se le comprobó la actividad antioxidante por los diferentes métodos (DPPH, ABTS, FRAP), se preparó a diferentes concentraciones del extracto (1 %, 2%, 4%); las cuales se les hizo ensayos espectrofotométricos a diferentes longitudes de onda, de acuerdo al método utilizado.

Por el método de DPPH la crema a la concentración del extracto al 4% resultó con una mejor actividad antioxidante, mostrándonos 1,58 TEAC ($p=1,24 \times 10^{-7}$), de la misma forma por el método ABTS y FRAP, la crema al 4% es la que obtuvo una mejor actividad antioxidante, con 0,064 y 0,016 actividad equivalente Trolox (TEAC) ($p=2.9 \times 10^{-4}$ y $p=1,1 \times 10^{-5}$), respectivamente.

Basándonos en la concentración que inhibe el 50% de radical libre (IC_{50}) la concentración de crema base al 4% es la que tiene una mejor aproximación al estándar, esta ocasión fue el Trolox.

Palabras clave: Hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca", radicales libres, capacidad antioxidante.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas son muy promisoras fuentes de nuevas drogas aún en estos tiempos, se espera que muchas de ellas sean desarrolladas en los siguientes 20 años, pero esto será posible sólo si hay una estrecha colaboración entre botánicos, farmacólogos y químicos de productos naturales ¹.

Las propiedades medicinales de las plantas vienen siendo investigadas, debido a sus potentes actividades antioxidantes, menor toxicidad y viabilidad económica ². Muchos compuestos antioxidantes, que nacen naturalmente en los vástagos de las plantas, están siendo identificados. Recientemente, el interés esta buscado considerablemente encontrar antioxidantes naturales para uso en los alimentos y así reemplazar a los antioxidantes sintéticos, los cuales están siendo restringidos debido a sus efectos secundarios tales como carcinogenicidad. Los antioxidantes naturales pueden proteger el cuerpo humano de los radicales libres y retar el progreso de muchas enfermedades crónicas, así como la degradación oxidativa de los lípidos en los alimentos ³.

El Perú y el mundo entero están expuestos a un sin número de enfermedades consecuentes de la producción de radicales libres (radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno, anión superóxido, óxido nítrico, etc) y estrés oxidativo, muchos de ellos inclusive tienen como desenlace la muerte. Por ello se introduce la necesidad constituyente del estudio en la actividad biológica de nuestras plantas y en buscar nuevas sustancias bioactivas que permiten controlar mejorar la salud de la población ⁴. La enfermedad relacionada con la inflamación es un problema real en la comunidad rural; la población en estas áreas utiliza muchos fármacos alternativos, tales como sustancias producidas a partir de plantas medicinales ⁵. La región andina del Perú posee una variada flora, muchas especies con reconocida actividad que beneficia para la salud, dentro de estas especies se encuentra *Baccharis salicifolia* "chilca", es una especie espontánea que crece en

las riberas de los ríos. En el Perú abunda y habita entre 1000 y 4000 msnm, en los departamentos de Amazonas, Ancash, Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Huancavelica, Junín, Piura. Etnobotánicamente, la infusión de las ramas se emplea como antiinflamatoria, antineurótica, antitumoral, antidisentérica y para tratar enfermedades del hígado ⁶.

Por otra parte, los antioxidantes naturales han alcanzado gran importancia por la relación directa que manifiestan con la disminución del riesgo a producir enfermedades coronarias y cáncer, entre otras. Numerosos antioxidantes, presentes en las frutas y verduras, entre los cuales se encuentran: vitamina E (α -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), β - caroteno (pro-vitamina A), compuestos fenólicos y flavonoides, se han relacionado a efectos positivos en la salud debido a su efecto antioxidante.

1.1 objetivos

1.1.1 Objetivos generales

Demostrar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca".

1.1.2. Objetivos específicos

- Identificar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca".
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos de la crema elaborada del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca".
- Determinar la mejor concentración de crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" que genera mejor captación de radicales libres.

1.1.3 Hipótesis

Hipótesis nula

La crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" no posee actividad antioxidante.

Hipótesis alterna

La crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" posee actividad antioxidante.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Un trabajo de tesis realizado por la Universidad de Latinoamericano presentado por Orozco M. Aprovechamiento de las hojas de chilca (*Baccharis latifolia*), en el diseño de un producto agroindustrial consistía en aplicar los diferentes métodos de la investigación, extracción de compuestos bioactivos de las hojas de chilca a partir de hidrodistilación, liofilización, extracción por agua y extracción por alcohol; el aprovechamiento de las hojas en una crema cosmética y pruebas de estabilidad físico microbiológico de la misma como resultado obtuvieron 4 mL de aceite esencial, 15,79 g de liofilizado, 253,21 mL de extracto clarificada en agua y 106,68 mL clarificado en hojas de chilca en alcohol, del producto obtenido se elaboró cremas cosméticas, sometieron la prueba de estabilidad física y química dando como resultado pH 6,8 en condiciones optima⁷.

Un trabajo presentado por la revista ciencias Farmacéutica y alimentarias de la universidad de la Habana. consistía en la propuesta de una formulación semisólida a partir de un extracto hidroalcohólico de *Talipariti elatum Sw.* Evaluaron por diferentes métodos 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y poder antioxidante del hierro (FRAP), en ambos métodos se utilizaron el extracto fluido por el método de percolación a una temperatura de 30 °C ± 2 °C, empleando una mezcla hidroalcohólico al 50 % a partir de las flores secas, encontrando en su mayoría contenido de fenoles y flavonoides, Finalmente se evaluó la actividad antioxidante por las técnicas FRAP y DPPH, evidenciándose que el extracto fluido y la formulación, bajo las condiciones de estudio, tenían propiedades antioxidantes. Los mejores resultados se obtuvieron para el extracto fueron superiores a la Vitamina C utilizada como patrón. Se demostró la factibilidad de empleo del extracto hidroalcohólico en una crema con propiedades antioxidantes para su posible utilización en fitocosmética⁸.

Un trabajo de tesis de pregrado realizado en la Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, presentado por Prada J. que consistía en el análisis metabólico de la especie *Baccharis latifolia* (Asteraceae). Se estableció el perfil químico mediante la cuantificación de fenoles y flavonoides y la capacidad antioxidante (DPPH y FRAP). Se realizó un análisis TLC (cromatografía de capa fina) con el revelador Vainillina con el fin de detectar principalmente terpenoides, los extractos se analizaron por HPLC-MS para estimar el número de metabolitos secundarios el análisis cuantitativo mostró que existe una alta correlación entre los fenoles y flavonoides, por método FRAP obtuvieron un resultado de 0.84 y 0.76, se identificaron 22 compuestos en total, 20 en hojas, 12 en tallos, 11 en flores y 4 en frutos. Con HPLC-MS se detectaron 36 compuestos en hojas, 28 en tallos, 17 en flores y 4 en frutos. Se realizó una identificación tentativa y se encontraron 22 flavonoides, 10 alcaloides, 3 terpenoides y 1 lignano mediante el análisis OPLS-DA, FRAP y DPPH y PCA con HCA identificando diferencias y similitudes entre las muestras. Concluyendo que *B. latifolia* es una planta bastante versátil, mostró cambios en su metaboloma⁹.

Un trabajo de tesis de pregrado en biotecnología realizado en la Universidad Politécnica Salesiana Quito. Presentados por Aldana C. Guayasamin L. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos alcohólicos y acuoso de las hojas de ficus citrifolia y caracterización química de los polifenoles. Se evaluó la actividad antioxidante hidroalcohólicos y acuoso al 20%, 50% y 80% de ficus citrifolia mediante los ensayos de DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidracilo) y ABTS (2,2 Azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfónico), cuantifico los fenoles y flavonoides, en todos los ensayos se demostró un valor significativo. En el ensayo de DPPH el valor de IC₅₀ dio un valor mínimo para el extracto alcohólica al 80% resultando 380,366 µg/mL y a comparación al extracto acuoso con 1299,18 µg/mL. y para el ensayo de ABTS 9786 µg/mL y más alto el extracto acuoso, la cantidad de flavonoides al 80% dando un resultado final 9,198 de extracto y el mínimo de 3,393, cuyos valores se expresaron con equivalentes a mg/mL de extracto. En conclusión, los extractos de los 2 métodos se evidenciaron un alto contenido de actividad antioxidante¹⁰.

Un trabajo presentado por la revista Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, que consistía en la formulación y evaluación de una crema facial antioxidante a base de hierbas de *Nardostachys jatamansi* recolectada en la región de Himalaya de la India Prakash A. y Saklani S. Método de actividad antioxidante, se evaluó

mediante 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH, los radicales DPPH reaccionan con agentes reductores adecuados que pierden color estequiométricamente y el número de electrones consumidos se midió espectrofotométricamente a 517 nm. Una fracción de etanol analizada a partir de una muestra de *N. jatamansi* mostró una actividad antioxidante significativa, es decir, 58,39 µg/mL (IC₅₀) en comparación con el ácido ascórbico estándar [46,68 µg/mL (IC₅₀)]. La búsqueda de extracto de etanol se encontró con la mayor actividad (94,1%) a una concentración de 100 µg/mL observada durante 30 minutos, mientras que el ácido ascórbico estándar mostró 91,27% a concentraciones de 5 µg/mL¹¹.

Un trabajo de tesis de pregrado realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima Perú. Presentado por Baltonado C. consistía en evaluar una crema dermatocósmica en potencial actividad antioxidante y efecto humectante. En primera instancia se realiza un tamizaje fitoquímico cualitativo para determinar los metabolitos que posee en la muestra, obteniendo como positivo las pruebas de Dragendorf, Mayer, Bertrand, Sonenhei (alcaloides), saponinas y shinoda (flavonoides), a su vez da negativo para la prueba de tricloruro (fenoles); sin embargo, para determinar la actividad antioxidante de la crema, se realiza el método de DPPH. Emitieron los siguientes resultados: IC₅₀ 138,18mg/mL para la crema base, IC₅₀ 25,37 mg/mL la crema de concentración de 0,25%, IC₅₀ 20,05 mg/mL para la crema de 0,5% y IC₅₀ 19,95 mg/mL para la crema de 1%; obteniendo resultados, la crema al 1% es la que tiene mayor actividad antioxidante se evaluó la estabilidad de la crema, humectante a la crema al 1%, sobre personas con piel seca utilizando el equipo Dermanalyzer, el cual indica el grado de humectación que la piel se encuentra, se utiliza tres cremas (crema base, crema comercial y crema del extracto liofilizado)¹².

Un trabajo de tesis de posgrado realizado por Ramos. en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima. Determinó la capacidad antioxidante in vitro y la actividad regeneradora in vivo de una crema cosmética con extracto hidroalcohólica de *Myrciaria dubia*. Consistía en evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólica de Camu Camu y la crema cosmética in vitro mediante el método espectrofotómetro utilizando radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), y cuantificación de compuestos fenólicas y la vitamina C in vivo, los resultados in vitro fueron de 45,248 mg ácido ascórbico/g y 2,717 mg ácido ascórbico/g crema, la concentración inhibitoria media IC₅₀ fue de 75, 911 para el extracto y 1264,2603 para la crema. Lo que demostró que el extracto y la crema tienen actividad

antioxidante lo cual ambos poseen mayor actividad regeneradora sobre la piel dañada¹³.

Un trabajo de tesis de pregrado realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Presentado por Aparcana M. y Villareal L. que consistía en Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de Frutos de *physalis peruviana* aguaymanto. Con La finalidad de determinar la capacidad antioxidante y la comparacion de polifenoles totales, con los métodos de Folin Ciocalteu, DPPH (1,1 –difeníl-2-picríl-hidrazilo) y ABTS (ácido 2,2 –azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico). Que en su conclusión afirma que el fruto de *physalis peruviana* L. presento mayor contenidos de compuestos fenólicos dando un resultado $149,3 \pm 1,62$ mg/eq de ácido gálico 100 g de fruto por el método de Folin Ciocalteu, con resultado mayor concentración de capacidad antioxidante determinando por el método de DPPH, de lo mismo obtuvieron los resultado de concentración inhibitoria IC_{50} fue de 1,86 mg/mL y por método ABTS obtuvieron una concentración inhibitoria IC_{50} 1,29 mg/mL, resultaría la capacidad antioxidante de los frutos de *physalis peruviana* como una fuente de beneficio para la salud¹⁴.

Un estudio publicado por la revista Per. Quim. Ing. Quim. Universidad Nacional de San Marcos Lima Perú. Presentado por Inocente M, Tomas Ch, Huamán J, Palomino M, y Bonilla P. que consistía en la extracción de compuestos fenólicos, cuantificación, actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK). Para la cuantificación de fenoles se utilizó el método de Folin Ciocalteu, para la actividad antioxidante se usó el método de DPPH y ABTS. Llegando a los siguientes resultados $111,657 \pm 2,823$ de equivalentes de ácido gálico/100ml de muestra, lo cual permitió establecer una relación con la actividad antioxidante con valores de $423,187 \pm 2,345$ μ mol Trolox/mL (método DPPH) y valores de $0,774 \pm$ mmol Trolox/mL muestra (método ABTS). Se obtuvieron valores de $11,754 \pm 0,241$ FPS (método *in vitro* de Mansur)¹⁵.

Un trabajo de tesis de posgrado realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, presentado por Chura M. cuya finalidad fue determinar la actividad antioxidante de *Smalanthus sonchifolia* mediante el extracto acuoso al 25% de las hojas y raíces frescas, con las muestras sobrenadante se prosiguió la capacidad antioxidante por los métodos de DPPH⁺, ABTS⁺ y FRAP, se determinó las concentraciones de polifenoles, vitamina C,

flavonoides y antocianina obteniendo los resultados de 4.75 mg/MI y 5.38 mg/mL respectivamente los resultados se obtuvieron en las hojas un valor de inhibitoria IC_{50} de 7.0 mg/mL la concentración de actividad antioxidante en la variedad blanca obteniendo un valor de 88.98 mg equivalente de ácido gálico en conclusión las hojas de yacón blanco obtuvieron mayor cantidad de polifenoles, flavonoides a comparación que las variedades el yacón morado presenta una elevada antioxidante con la método FRAP y ABTS, con diferencia a DPPH¹⁶.

Un trabajo de tesis de pregrado realizado en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, presentado por Vargas H. contenido de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies del género Senecio y la determinación de su actividad antioxidante in vitro. Consistía en evaluar la actividad antioxidante, por el métodos de folin ciocalteu y cloruro de aluminio respectivamente, la actividad antioxidante fueron determinados por los tres métodos DPPH, radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo y el métodos de radical ácido 2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS) y la capacidad reductora de hierro (FRAP) las variedades de muestras de Senecio obtuvieron mayor cantidad de fenoles y flavonoides totales $63,076 \pm 0,25$ mg EAG/g de la muestra seca y $64,15 \pm 1,99$ mg EQ/g de la muestra las concentración inhibitoria IC_{50} de las tres especies del género de senecio por los métodos de DPPH, ABTS y FAP, $27,22 \pm 0,15$ μ g/mL, $29,85 \pm 0,12$ μ g/mL y $5,49 \pm 0,04$ μ g/mL. En conclusión, las plantas del genero senecio poseen mayor actividad de antioxidantes¹⁷.

Un trabajo de tesis realizado en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, presentado por Martínez. Consistía en evaluar desarrollo de una formulación de crema a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria engleriana Kraenzl "wawillay"* por el método extracto atomizado a 70°C y percolación del extracto se desarrolló tres formulaciones de la crema a base de extracto atomizado, eligiéndose la crema 2% por presentar mejores parámetros fisicoquímicos. Se le realizó estudios de pre-estabilidad durante un mes, en ella se evaluó sus características fisicoquímicas, así mismo se determinó el porcentaje de fenoles por el método de Folin Ciocalteu obteniendo un resultado significativo en el porcentaje de fenoles. ($p > 0,05$). Se concluye que la fórmula elegida tiene buenos atributos de estabilidad¹⁸.

Un trabajo de tesis desarrollado en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, realizado por López. Consistía en determinar la actividad antioxidante in vitro de la crema gel elaborada a base del extracto atomizado de las vainas de *caesalpineae spinosa*, frente a dermatofitos, se realizó tamizaje fitoquímica. Los metabolitos secundarios obtenidos fueron taninos, fenoles, quinonas, saponinas entre otros, a si mismo se evaluó las características fisicoquímicas de la crema gel elaborada a base del extracto atomizada, las cremas al 3%; 5% y 7% cumplen los parámetros fisicoquímicos, obteniendo mayor actividad con un promedio de inhibición de 49,8667 mm frente a *Trichopyton rubrum*¹⁹.

Un trabajo de tesis de pregrado realizado en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, presentado por Omonte. actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *mutisia acuminta* R&P. el presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antioxidante, la obtención de compuestos fenólicos a partir de un extracto etanólico con solventes de diferentes polaridades, en ella se obtuvieron identificaciones mediante ensayos cualitativos, cromatografías y espectrofotométricos, en ella indicaron la presencia de isoflavonas, la actividad antioxidante por el método de 1,1 difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), se elaboró las cremas a concentraciones de 0,5 1 y 2% a base de compuestos fenólicos, la crema al 2% presenta mayor porcentaje de inhibición de radicales libre (99,70%) respecto a las cremas al 0,5 y 1,0% representando un porcentaje similar. Se concluye que la crema pose características organolépticas optimas y todas las concentraciones tuvieron actividad antioxidante²⁰.

Un trabajo de tesis de pregrado realizado en la universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por Vicuña. consistía en determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx Epiling* Wayra muña. Se realizó por el método espectrofotométrico usando DPPH (1, 1-difenil-2-pricrilhidrazilo) como fuente de radicales libres, a la fracción etanólico al 50 °C con agitación constante se identificó como catequinas lactonas, saponinas, flavonoides, fenoles, taninos, triterpenos y esteroides como metabolitos secundarios, se elaboró las cremas a concentraciones de 0,5%, 1%, 2% y 4% de extracto atomizados, La crema al 2,0% presentó mayor actividad antioxidante por captación de radicales libres a un concentración de 50µg/mL (99,4%) en comparación a las cremas al 0,5%, 1% y 4% (p<0,05)²¹.

2.2. *Baccharis salicifolia* “chilca”

2.2.1. Clasificación taxonómica

Según el jefe del Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

DIVISION:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE:	MAGNOLIOPSIDA
Subclase:	ASTERIDAE
ORDEN:	ASTERALES
FAMILIA:	ASTERACEAE
GENERO:	<i>BACCHARIS</i>
ESPECIE:	<i>Baccharis salicifolia</i>
SINONIMIA:	<i>Baccharis lanceolata</i> (Kunth.)
N.V.:	“chilca”

Fuente Herbarium Huamangensis, 2018 (anexo 01)

2.2.2. Generalidades

Baccharis salicifolia o azumiate, es el nombre que se le da al arbusto, también conocido como jara amarilla, chilca, azulmiate o cucamoarisha. Su área de dispersión abarca el sur de Estados Unidos hasta el centro de Chile y Argentina. En el sur de México es popularmente conocido como azumiate del nahuatl "azumiatl"). Es una especie de planta perteneciente a la familia Asteraceae es típica del desierto del sudoeste de Estados Unidos y noroeste de México, donde se la conoce como mula grasa o batamote, encontrándose también por las tres zonas subcontinentales de América incluyendo al centro de Argentina y Chile donde se la conoce como chilca (una de las especies llamadas chilca en parte de Argentina ²².

2.2.3. Descripción botánica.

Las Asteraceae ocupan el segundo lugar entre las familias más diversas de la flora peruana. Esta familia es reconocida en el Perú por presentar alrededor de 250 géneros y 1590 especies, mayormente hierbas, arbustos y subarbustos²³.

Baccharis salicifolia “chilca” es un arbusto de porte bajo, perennifolio, propio de zonas templadas y templado-frías; de hojas simples alargadas de color verde claro, de bordes ligeramente aserrados, alternas, sin estípulas, y de consistencia pegajosa, debido a la presencia de abundante resina. Flores pequeñas, tubuladas, agrupadas en inflorescencias típicas en cabezuelas o capítulos. Frutos pequeños aquenios provistos de vilano característico que le sirve como elemento de dispersión. Esta especie vive en zonas situadas entre los 2600 y 3500 msnm. En estado silvestre sobre suelos pobres en sales nutrientes, a veces como integrante de la vegetación monte ribereña ²⁴.

2.2.4. Distribución geográfica.

Está distribuido en la mayor parte de las zonas semihúmedas de México y se encuentra en los estados de Oaxaca, Nayarit, Puebla, Jalisco, y Colima. En La Pampa y en el resto de Argentina se conoce con el nombre de chilca, este nombre popular en el centro de ciertas zonas de Argentina y Chile deriva del vocablo mapudungun chilca ²².

En el Perú se encuentra en zonas templadas y frías, la mayor parte de la especie de *Baccharis salicifolia* chilca habita en el distrito de Quinua Provincia de Huamanga de departamento de Ayacucho.

2.2.5. Composición química.

La fitoquímica del género *Baccharis* se ha estudiado ampliamente desde principios de 1900. A la fecha, se han aislado e identificado más de 150 compuestos del género *Baccharis*. Los compuestos más significativos son aceites esenciales, diterpenoides, triterpenoides y compuestos fenólicos como flavonoides, cumarinas y derivados fenólicos simples²⁵.

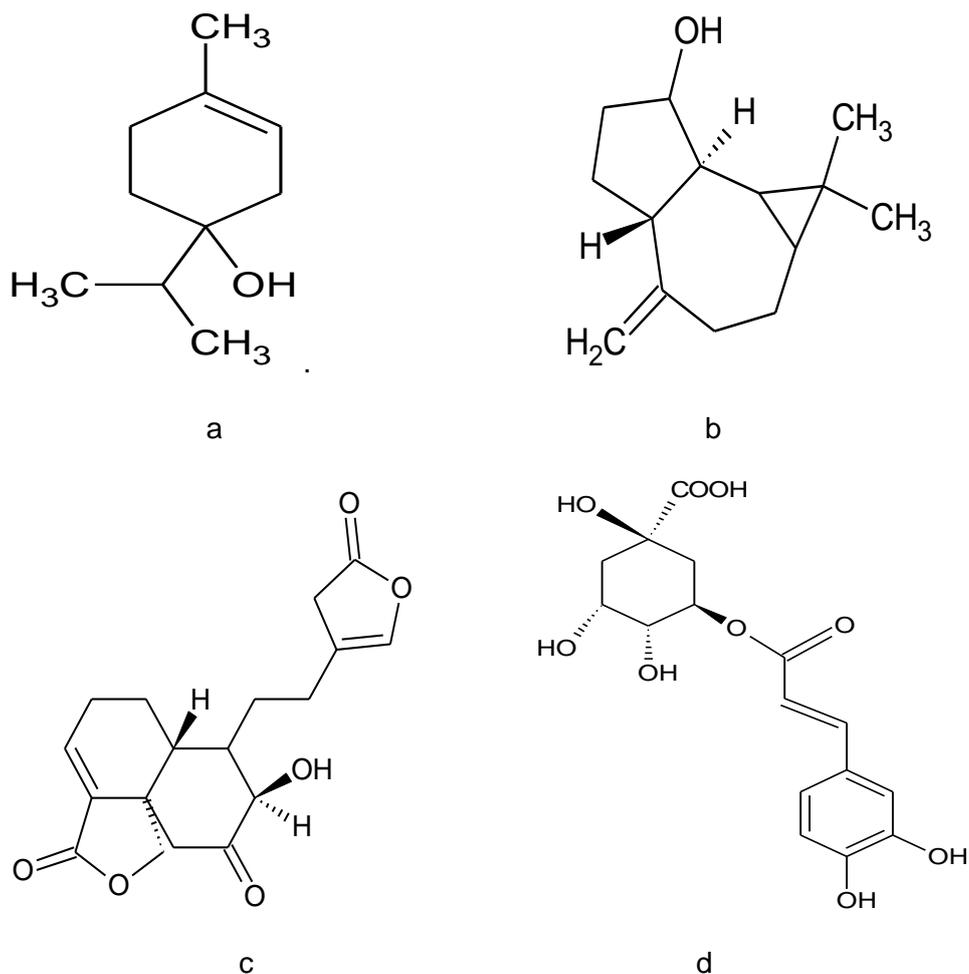


Figura 1. Algunos compuestos químicos presentes en el género *Baccharis*. a. terpinen-4-ol. b. spatulenol. c. bacchariol. d. ácido oleanólico²⁵.

2.2.6. Propiedades biológicas

Los muchos usos medicinales tradicionales generales de *Baccharis* incluyen el tratamiento de heridas y úlceras, fiebre, enfermedades gastrointestinales, como espasmolíticos, diuréticos y analgésicos, y en el tratamiento de la diabetes y las infecciones bacterianas o fúngicas. La infusión de las hojas y ramas frondosas de *Baccharis salicifolia* (R. et P.) Pers. Se aplica externamente como un remedio para la inflamación. Una decocción de las hojas y tallos también se ha utilizado como agente de higiene femenina²⁴.

2.3. Compuestos fenólicos

Los polifenoles son antioxidantes activos, abundantes, principalmente en los tejidos vegetales. Estos antioxidantes corresponden a un conjunto heterogéneo de molécula que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos, sustituido por función hidroxilos²⁵.

Los fenoles o polifenoles son metabolitos secundarios de origen vegetal considerados como los principales componentes antioxidantes en los alimentos y además son compuestos antioxidantes más abundantes en nuestra dieta por cual, muchos de los efectos beneficiosas asociado al consumo de alimentos de origen vegetal se atribuyen a gran medida a estos compuestos fenólicos²⁶.

Por su facilidad de ceder un radical hidrogeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre dada la posibilidad de dislocación de cargas en el sistema de dobles enlaces de anillo aromáticos²⁷.

2.3.1. Flavonoides

Los flavonoides constituyen la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal²⁸.

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. 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 patologías²⁹.

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-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 ²⁹.

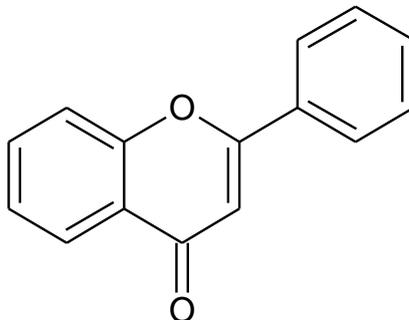


Figura 2. Estructura química de la 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de flavonoides ³⁰

2.3.2. Antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas que inhiben o contrarrestan las reacciones de radicales libres y retrasan o inhiben el daño celular ³¹.

Según su modo de acción es posible diferenciar a los antioxidantes denominados primarios, debido a que actúan interrumpiendo la reacción en cadena que producen los radicales libres y generando como consecuencia de ello un radical libre menos activo; también es posible observar la existencia de antioxidantes secundarios, que tienen acción preventiva y actúan atrapando los iones metálicos que producen la descomposición del peróxido de hidrógeno, generando como consecuencia de ello el radical hidroxilo ³².

Los antioxidantes naturales han alcanzado gran importancia por la relación directa que manifiestan con la disminución del riesgo a producir enfermedades coronarias y cáncer, entre otras. Numerosos antioxidantes, presentes en las frutas y verduras, entre los cuales se encuentran: vitamina E (α -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), β - caroteno (pro-vitamina A), compuestos fenólicos y flavonoides, se han relacionado a efectos positivos en la salud debido a su efecto antioxidante ³³.

2.3.3. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un estado que se caracteriza por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad antioxidante de las células. En el paso a la vida oxigenada las células se dotaron de sistemas

antioxidantes que pueden ser enzimáticos y por lo tanto involucran mecanismos algunas veces complejos, y no enzimáticos en los que participan biomoléculas que generalmente poseen menor peso molecular que las enzimas. La producción de especies reactivas del oxígeno se produce constantemente en la mitocondria. Entre 2 a 5% del oxígeno que entra en la cadena respiratoria se reduce de forma univalente para dar radical superóxido. Las sustancias que participan en las reacciones de los sistemas de defensa antioxidante se inactivan o deterioran en determinadas situaciones. Este deterioro puede ser causado por alguna enfermedad crónica o transitoria que provoca incrementos sustanciales en la producción de oxidantes y prooxidantes³⁴.

Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto, se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos ³⁵.

2.3.4. Radicales libres

Los radicales libres, especies químicas que poseen uno o más electrones desapareados, reaccionan con las moléculas adyacentes mediante reacciones de óxido-reducción para estabilizar y formar especies menos reactivas del oxígeno (reactive oxygen species, ROS incluye radicales libres, como, por ejemplo: HClO, HO₂, O₃, ONOO⁻, H₂O₂)³⁶.

Los antioxidantes son captadores de radicales libres y por ello retrasan o inhiben la etapa de iniciación del proceso de oxidación, lo que disminuye la consecuente formación de productos de descomposición volátiles: ejemplo aldehído y cetona.³⁷

Un radical libre puede definirse como una molécula o fragmentos moleculares que contienen uno o más electrones desapareados en su orbital atómico exterior o molecular y son capaces de una existencia independiente. Existen las especies reactivas de oxígeno (ROS), hidroxilo (OH⁻), peróxido (RO₂⁻), hidroperóxido (HO₂⁻), alcoxilo (RO⁻), peróxido (ROO⁻), óxido nítrico (NO⁻), dióxido de nitrógeno (NO₂⁻) y el lípido peróxido (LOO⁻), y no radicales como el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el ácido hipocloroso (HOCl), el ozono (O₃), el oxígeno singlete (¹Δg), peroxinitrato (ONOO⁻), ácido nitroso (HNO₂), trióxido de dinitrógeno (N₂O₃), peróxido de lípido (LOOH). Los llamados no radicales también actúan como oxidantes y son capaces

de conducir reacciones de radicales libres en los organismos vivos con facilidad. Los radicales que se derivan del oxígeno se caracterizan como la clase más importante de las especies de radicales generados en los sistemas vivos ³⁸.

- Radiaciones UV, rayos X, rayos gamma y la radiación de microondas.
- Reacciones catalizadas por metales.
- Radicales libres de oxígeno en la atmósfera considerados como contaminantes.
- La inflamación estimula a los neutrófilos y los macrófagos para producir ROS y RNS.
- Los neutrófilos estimulados por la exposición a microbios.
- En las reacciones de transporte de electrones mitocondriales, los radicales libres de oxígeno son producidos como producto.
- ROS se forma a partir de varias fuentes como el citocromo oxidasa mitocondrial, la xantina oxidasa, neutrófilos y por la peroxidación lipídica.
- ROS generados por el metabolismo del ácido araquidónico, plaquetas, macrófagos y células musculares lisas.
- La interacción con los productos químicos, humo, fumar cigarrillos.

2.3.5. Sistema de protección antioxidante endógeno

Aproximadamente el 5% o más del oxígeno inhalado (O_2) se convierten en especies reactivas de oxígeno (ROS) tales como el O_2^- , H_2O_2 y OH por reducción univalente de O_2 . Los antioxidantes pueden actuar por barrido de especies reactivas de oxígeno (SOD eliminación de O_2^-), mediante la inhibición de su formación (por ejemplo, mediante el bloqueo de la activación de los fagocitos), mediante la unión de iones de metales de transición y prevención de la formación de OH y/o descomposición de lipoperóxidos, mediante la reparación de los daños (por ejemplo, el α -tocoferol en la reparación de radicales peroxilo y culminación de la reacción en cadena de la peroxidación lipídica) o por cualquier combinación de las anteriores ³⁹.

Los antioxidantes endógenos se clasifican en primarios, secundarios y terciarios, en dependencia de su función. En el primer grupo, se encuentran los enzimáticos, entre los que se encuentran el superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa

(GPX) y proteínas de unión a metales (GR). En el segundo grupo de antioxidantes están antioxidantes hidrofílicos como la vitamina C, (ascorbato), ácido úrico, bilirrubina y albúmina. Los antioxidantes lipofílicos son la vitamina E (alfatocoferol), carotenoides y las ubiquinonas ⁴⁰.

2.4. Actividad antioxidante

Los adelantos científicos y específicamente en la medicina son realmente sorprendentes, tanto en el conocimiento de las enfermedades, su tratamiento, así como sus complicaciones, no obstante, quedan aún muchas dudas que aclarar con respecto al origen de estas. En los últimos 30 años viene desarrollándose cada día un interés mayor por los problemas relacionados con el estrés oxidativo, los radicales libres, las especies reactivas del oxígeno y los antioxidantes, todo esto dado por la importancia que poseen en la bioquímica, la biología y la medicina. Las ciencias médicas están dando un paso de avance significativo en el conocimiento de muy variadas enfermedades, en su fisiopatología, su tratamiento y más importante aún en su prevención ⁴¹.

2.4.1. Daño oxidativo

De manera habitual, el oxígeno se encuentra en su forma estable (O_2), con los electrones que forman el enlace (σ), antienlazante con el mismo espín, es decir, en lo que se conoce como estado triplete, así el oxígeno es poco reactivo con una velocidad de reacción a temperatura fisiológica; sin embargo por reacciones puramente químicas, por acciones enzimáticas o por efecto de las radiaciones ionizantes, se pueden producir una serie de especies químicas o sustancias prooxidantes (moléculas o radicales libres altamente reactivos) que son capaces de dar lugar a múltiples reacciones con otros compuestos presentes en el organismo, que llega a producir daño celular. Por lo anteriormente expuesto se comprende que, si bien el oxígeno es imprescindible para el metabolismo y las funciones del organismo y son efectos tóxicos que posee⁴².

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto, se

reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndrome de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos⁴².

2.4.2. Efecto nocivo de los radicales libre

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

a. Lípidos: Es aquí donde se producen el daño que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular produciéndose edema y muerte celular. La peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno, el oxígeno singlete, el peróxido de hidrogeno y el radical hidroxilo. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal, sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno⁴³.

Los factores que influyen en la magnitud de la peroxidación lipídica son:

- La naturaleza cualitativa y cuantitativa del agente iniciador.
- Los contenidos de la membrana en ácidos grasos poliinsaturados y su accesibilidad.
- La tensión de oxígeno.
- La presencia de hierro.
- El contenido celular de antioxidantes (betacarotenos, alfatocoferoles, glutatión)
- La activación de enzimas que pueden hacer terminar la cadena de reacción como es el caso del glutatión peroxidasa (GSH-Prx).

Una vez que se inicia, el proceso toma forma de “cascada”, con producción de radicales libres que lleva a la formación de peróxidos orgánicos y otros productos, a partir de los ácidos grasos insaturados; una vez formados, estos radicales libres son los responsables de los efectos citotóxicos.

b. Proteínas: Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además se forman entrecruzamientos de cadena peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos.

c. Ácido desoxirribonucleico (ADN)

Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilaciones de citosina ADN que activan genes. El daño se puede realizar por la alteración, inactivación o pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden ser modificaciones

2.4.3. Sistema de defensa antioxidante

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presentes en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN. Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar e interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente, membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas, lípidos, proteínas, ADN, etc. funcionalmente vitales o más importantes. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos⁴³.

Actúan como eliminadoras (scavengers), con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidantes a favor de estos últimos. Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contiene.

Tabla 1. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción ⁴³.

Intracelular	Membrana	Extracelular
Superóxido dismutasa	Vitamina E	Ceruloplasmina
Catalasa	Betacarotenos	Transferinas
Peroxidasa	Ubiquinol-10	Lactoferrinas
DT-deafarasa		Albuminas
GSH		Haptoglobinas
Proteína que ligan metales		Vitamina C
Sistemas proteolíticos		Ácido úrico
Vitamina C		Vitamina E

2.4.4. Características de las enzimas antioxidantes

2.4.4.1. Catalasa (CAT)

Tiene una amplia distribución en el organismo humano, alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo y epitelios, prácticamente nula en tejido nervioso y se localiza a nivel celular: mitocondrias, peroxisomas, citosol (eritrocitos); presenta dos funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúan en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrogeno⁴³.

2.4.4.2. Glutación peroxidasa (GPx)

Es una enzima selenio dependiente, cataliza la reducción de peróxido de hidrogeno a lipoperóxido (L-OOH), usa como agente reductor el glutatión reducido (GSH) y se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmunológico). Existen tres formas de GPx: GPx-c o forma célula, tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrogeno que por el lipoperóxido de hidrógeno que por el lipoperóxido; GPx-p o forma extracelular, presenta afinidad semejante para ambos sustratos; GPx-PH, tiene afinidad específica para los lipoperóxidos. Las formas GPx-c y GPx-p no son capaces de utilizar los lipoperóxidos⁴³.

2.4.4.3. Peróxido dismutasa

Su atribución es amplia en el organismo, está formada por un grupo de enzimas metaloides: Cu-SOD y Zn-SOD, contienen cobre y cinc en su sitio activo y se encuentran en el citosol y en el espacio inter-membranoso mitocondrial; Mn-SOD: contiene manganeso y se localiza en la matriz mitocondrial; FE-SOD: contiene hierro y se localiza en el espacio periplasmático de la *E. coli*. estas enzimas

dismutan el oxígeno para formar peróxido de hidrógeno y su principal función es la protección contra el anión superóxido⁴³.

Tabla 2. Clasificación de los antioxidantes, según origen⁴³.

		Origen	Acción
Exógenos		Vitamina E	Neutralizan el oxígeno singlete Capturan radicales libres de hidroxilo Capturan O ₂ Neutralizan peróxidos
		Vitamina C	Neutralizan el oxígeno singlete Capturan radicales libres de hidroxilo Capturan O ₂ Regeneran la forma oxidativa de la forma vitamina E
		Betacarotenos	Neutraliza el oxígeno singlete
		Flavonoides, licopenos	
Endógenos	Enzimáticos	Superóxido dismutasa (SOD) Catalasa Glutación peroxidasa (GPx)	Funcionan como cofactor
	No enzimáticos	Glutación	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células. Transportadores de metales (transferrina y ceruloplasmina)

2.5. Efecto antioxidante de los fenoles

Los fenoles son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales. Originan una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en las plantas, en su mayoría derivados de la fenilalanina y en menor cantidad de la tirosina. Estos compuestos constituyen un amplio grupo de sustancias, presentes en las plantas con diferentes estructuras. Existen más 8000 compuestos fenólicos identificados.

Los compuestos fenólicos están relacionados con la cantidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, frescos y procesados. Actualmente este grupo de compuestos fitoquímicos es de gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. Además, los compuestos fenólicos intervienen

como antioxidantes naturales en los alimentos, por lo que la obtención y preparación de productos con un alto contenido de estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, pudiendo incluso englobarlos dentro de los llamados alimentos funcionales. Desde un punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, ya sea manteniendo o incrementando su actividad catalítica o reduciéndolos⁴⁴.

2.6. Evaluación de la actividad antioxidante por el método DPPH.

El método de radical DPPH estable, es un método ampliamente utilizado, relativamente rápido, más aceptado y preciso para la evaluación de la actividad de barrido de radicales libres del extracto de plantas. 1, 1-difenil-2-picril hidroxilo (DPPH) es un radical libre inestable y acepta un electrón o hidrógeno para convertirse en una molécula estable. Un antioxidante en la interacción con DPPH, transfiere un electrón o un átomo de hidrógeno al DPPH y neutralizar así su carácter de radical libre. El grado de decoloración de DPPH indica la actividad de barrido del extracto de la planta. La capacidad de reducción del radical DPPH se determina por la disminución de su absorbancia a 517 nm. La disminución de la absorbancia del radical DPPH causada por el antioxidante debido a la reacción entre el antioxidante y el progreso radical que da lugar a la eliminación del radical por la donación del hidrógeno. Se nota visualmente como un cambio en el color de púrpura a amarillo. El radical libre DPPH con un electrón impar da una absorción máxima a 517 nm (color púrpura). Cuando un antioxidante reacciona con DPPH, que es un radical libre inestable, se empareja en presencia de un donador de hidrógeno y se reduce a la DPPH y como consecuencia, la absorbancia a 517 nm disminuye desde el DPPH a la forma DPPH-H; por ende, da lugar a una decoloración (color amarillo) con respecto al número de electrones capturados. Más es la decoloración, más es la capacidad de reducción. Esta prueba ha sido el modelo más aceptado para evaluar la actividad de barrido de radicales libres de un extracto. Por tanto, DPPH se utiliza normalmente como sustancia para evaluar la actividad antioxidante ⁴⁵.

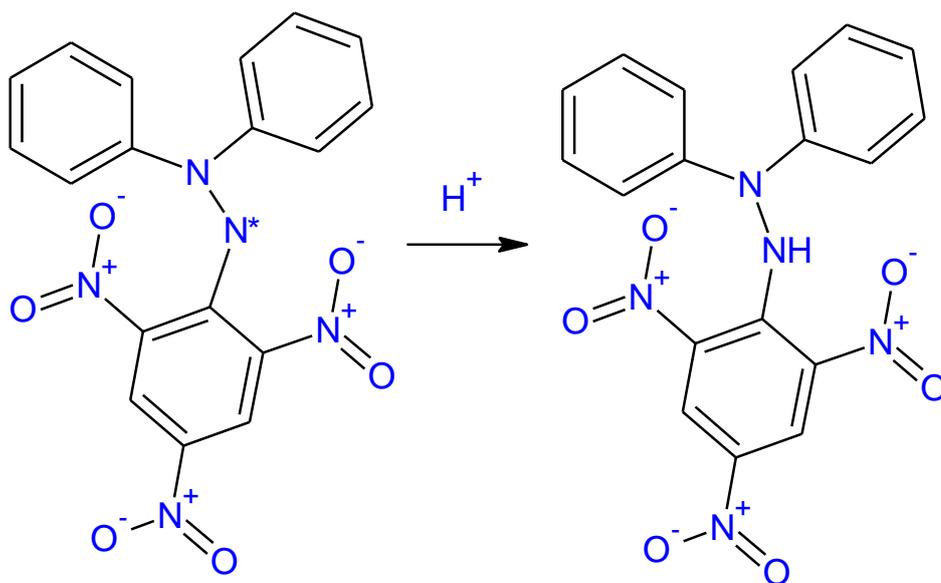


Figura 3. Reducción del DPPH tras la adición de un ion hidrogeno⁴⁵

2.7 Evaluación de la actividad antioxidante por el método ABTS

Este método fue reportado inicialmente por Miller y colaboradores, y se fundamenta en la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical catión coloreado ABTS^{•+}, el cual es formado previamente por la oxidación del ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfónico)) por metamioglobina y peróxido de hidrógeno. Los resultados son expresados como equivalentes de Trolox o TEAC (por su nombre en inglés, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)⁴⁶.

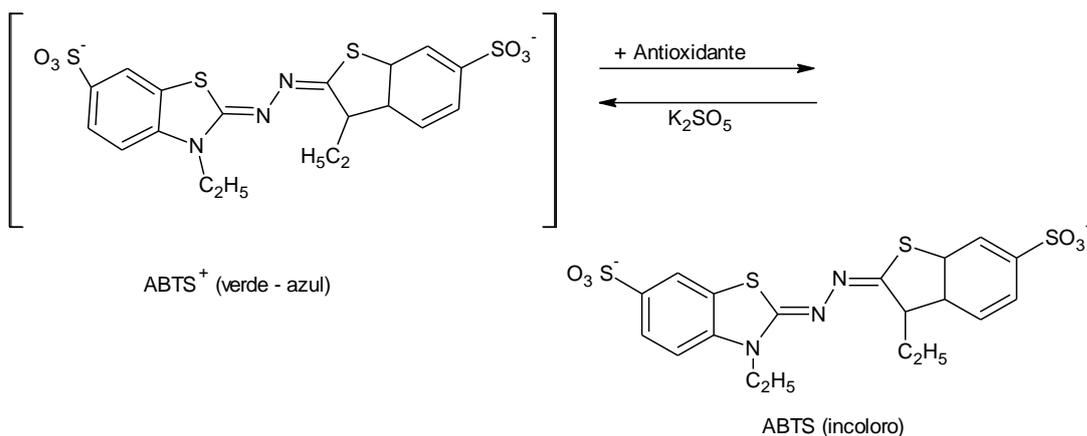


Figura 4: Estructura química del ABTS⁴⁶

2.7. Evaluación de la actividad antioxidante por el método FRAP

CRHF (Capacidad para Reducir el Hierro Férrico), conocido en inglés como FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) El método CRHF fue desarrollado originalmente por Benzie y Strain para medir el poder reductor del plasma; sin embargo, posteriormente fue adaptado para medir actividad antioxidante de productos fitoterapéuticos y nutracéuticos. Como se muestra en la figura 8, la reacción mide la reducción de 2,4,6-Tripiridiltriazina Férrica (TPTZ) a un producto coloreado y detecta compuestos con potenciales redox < 0.7 V. Se cree que el poder reductor está correlacionado con el grado de hidroxilación y conjugación en polifenoles; sin embargo, CRHF no puede detectar compuestos que actúan por mecanismo TAH, subestimando el potencial antioxidante de mezclas que contengan, por ejemplo, tioles ⁴⁷.

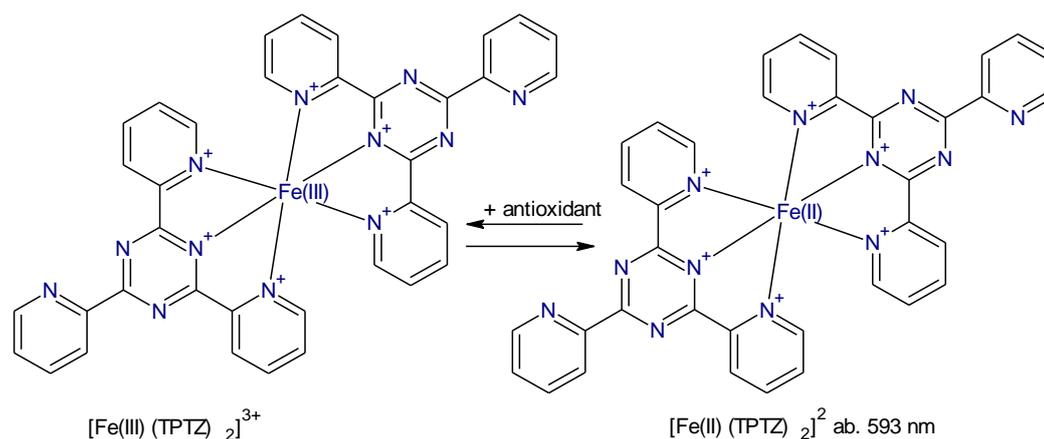


Figura 5: Fundamento del método FRAP mostrando la reducción de 2,4,6-Tripiridil-Triazina Férrica (TPTZ)⁴⁷.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios de toxicología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Tipo de investigación

Básica-Experimental, la investigación consta de dos variables:

Variable independiente: concentraciones de la crema, elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* chilca.

variable dependiente: En la que se determina la cantidad de actividad antioxidante en una muestra.

3.3. Definición de la población y muestra

a. Población

las Hojas en estado de floración de *Baccharis salicifolia* "chilca" que crecen en el distrito de Quinua, provincia de Huamanga, Región Ayacucho.

b. Muestra

500 g de hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca"

3.4. Obtención del extracto hidroalcohólico

500 g de hojas secas de *Baccharis salicifolia* "chilca" fueron molidas en un mortero de porcelana y luego es extraídos por maceración durante siete días con etanol de 80°. Se filtró con papel Whatman N°40 y la solución hidroalcohólica se concentró a presión y temperatura reducida en un rotavapor y finalmente hasta sequedad en una estufa a una temperatura no mayor de 50°C.

3.5. Identificación fotoquímica

Se realizó la identificación de los principales metabolitos secundarios presente en el extracto hidroalcohólico según Miranda⁵¹.

Tabla 3. Tamizaje fitoquímicos según Miranda.

Prueba	Puntuación	Observaciones
Alcaloides	Drangendorf	En una reacción positiva existirá formación de un precipitado naranja
Flavonoides	Shinoda	Si es positivo, mostrará una coloración amarilla, naranja, carmelita o rojo.
Saponina	Espuma	Formación de espuma, evidencia a las saponinas
Azúcares	Benedict	Si es positivo, evidenciará una coloración naranja
Aminas (aminoácido)	Ninhidrina	Evidencia una coloración azul violáceos si la reacción es positiva
Cardenólidos	Kedde	La reacción positiva evidencia una coloración violácea

3.6 Elaboración de la crema

Tabla 4. Fórmula para la elaboración de la crema del extracto hidroalcohólico atomizado de las hojas de *Baccharis salicifolia*¹⁹.

FORMULAS (G)	Concentración		
	1%	2%	4%
Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca"	0,3		
Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca"		0,6	
Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca"			1,2
Vaselina solida	5,0	5,0	5,0
Alcohol cetílico	3,0	3,0	3,0
Propilenglicol	2,0	2,0	2,0
Lauril sulfato sódico	0,5	0,5	0,5
Metilparabeno	0,0076	0,0076	0,0076
Propilparabeno	0,0046	0,0046	0,0046
Agua purificada csp.	30,00	30,00	30,00

3.6.1 Procedimiento de la crema

a. Formación de la fase oleosa: se colocó en un recipiente de acero inoxidable provista de baño maría, vaselina sólida, alcohol cetílico, y propilenglicol), se fundió a 70 °C bajo agitación moderada. Manteniendo la agitación hasta lograr una perfecta incorporación y homogenización manteniendo la temperatura a 70 °C.

b. Formación de la fase acuosa: en un recipiente adecuado de acero inoxidable provisto de baño maría se cargó agua purificada y se calentó a 70 - 75°C, luego se agregó metilparabeno y propilparabeno, se agitó hasta disolución completa, se agregó bajo la agitación moderada el extracto de *Baccharis salicifolia* "chilca", disuelto en lauril sulfato de sodio hasta disolución completa⁴⁸.

c. Formación de la emulsión final: una vez que los ingredientes estén totalmente disueltos en sus respectivas fases y manteniendo las correspondientes temperaturas se incorporó lentamente bajo agitación moderada la fase acuosa sobre la base oleosa, evitando la formación de burbujas, hasta lograr una emulsión completa. Se apagó las fuentes de calor y se deja que la temperatura descienda normalmente en una hora mientras se continuó agitando constantemente. La emulsión formada se caracterizará por su consistencia. Se verificó el pH (entre 5,0 a 7,5). Si fuera necesario se ajusta el pH con hidróxido de sodio 1N o con ácido clorhídrico 1N con agitación moderada se verificó el peso final del lote, se deja en reposo hasta su enfriamiento en un ambiente aséptico. Una vez verificado sus controles y ensayos, se envasó en un ambiente aséptico en sus envases respectivos y previamente sanitizados.

3.6.2. Determinación de las características organolépticas

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

b. Olor. Se cogió aproximadamente 0,5 g de muestra con el dedo índice de la mano derecha y se extiende en el dorso de la mano izquierda con ligera presión, determinando el tipo de olor⁴⁸.

c. Aspecto: Se tomó una cantidad suficiente de la muestra y se colocó en una luna de reloj, luego de observar se determinó el aspecto de la muestra

3.6.3. Determinaciones de las características fisicoquímicas

a. Determinación del índice de extensibilidad.

Se utilizó dos placas de cristal de 10x10 cm, se coloca una cantidad de muestra de la crema, la extensibilidad se mide en mm² (Área = $\pi (d/2)^2$) frente a los pesos empleados⁵⁸.

b. Determinación de pH. Para realizar la determinación de pH de la crema se empleó tira reactiva de pH, en escala de 0 a 6 pH ácido, 7 pH neutro y de 8 a 14 básico, se midió el pH sumergiendo a la tira reactiva en la muestra a evaluar después de 2 minutos cuando el color de la tira haya cambiado ²¹.

c. Determinación de solubilidad. Se determinó la solubilidad de la crema se pesó un gramo de la muestra y se transvasó en un tubo de ensayo, el cual se adicionó 1 mL de disolvente (agua, alcohol y metanol), se agitó y observó en caso de no disolver aumentar el disolvente al 10 mL sucesivamente para 30 mL 100mL y más de 10 L.

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

e. Evanescencia, poder refrescante. Se colocó un gramo de muestra en el dorso de la mano y se observa si la crema se evapora rápidamente o se mantiene en la mano.

f. Homogeneidad. Se realizó una extensión de la muestra sobre un portaobjeto y se sitúa encima de una superficie negra, luego se procede a visualizar con una lupa.

3.7. Ensayo de actividad antioxidante

3.7.1. Evaluación de la actividad antioxidante de la crema (Método DPPH)

Fundamento del método

Se empleó el método de Brand-Williams con algunas modificaciones. Se evaluó la capacidad de las muestras para atrapar el radical DPPH⁴⁵. Se basa en decoloración de radical libre DPPH Por medio de la disminución en la absorbancia leída. Luego de 30 min de la reacción a una longitud de onda de 517 nm.

En primer lugar, preparó, solución stock de DPPH 0,012 mg/L en una fiola cubierto con papel de aluminio, se aforó a 50 mL con metanol, en un rango de absorbancia de $1,1 \pm 0,02$ a 517 nm, se preparó una curva de calibración a diferentes concentraciones 1,0; 5,0; 20,0; 40,0; 60,0 y 80,0 $\mu\text{g/mL}$ utilizando trolox como patrón de cuantificación.

Preparación de la muestra

Las cremas formuladas al 1%, 2% y 4% se pesó 1,0 gramo de cada uno de ellas en un vaso precipitado y se aforó a 25 ml con metanol, se preparó las diluciones para obtener las diluciones de 25, 50 y 100 200 $\mu\text{g/mL}$ una vez preparada las diluciones se tomó 100 μl de las muestras al cual se le adicionó 2,900 μL de la solución de DPPH 0,1 mM, se homogenizó y dejó en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente bajo la oscuridad, se mide la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. Todo el análisis se realizó por triplicado (n=3).

El porcentaje de inhibición o porcentaje de decoloración fue calculado como:

$$\% \text{ Inhibición del DPPH} = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

Donde:

A: Lectura de la absorbancia del DPPH

B: Lectura de la absorbancia de la muestra después de 30 minutos.

La concentración requerida para el 50% de inhibición del radical libre DPPH (IC) se calcula mediante la ecuación de la gráfica de concentración del producto y trolox vs % inhibición. El blanco será DPPH en metanol 0,1mM. Como control positivo se preparó una curva patrón de trolox a las mismas condiciones de análisis de la crema, para comparar las IC. Los resultados se expresaron en μmol de Trolox/g de muestra. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

3.7.2. Evaluación de la actividad antioxidante de la crema (método ABTS*)

Se siguió el procedimiento propuesto por Inocente et al.⁴⁶, con algunas variantes. curva de calibración solución stock del ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfato) ABTS, se pesó 0,0475 mg disuelto en 10 mL de agua destilada lo cual se diluyó en agua destilada. Solución de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ pesó 2,50 mM con agua destilada a temperatura ambiente (25 °C) la mezcla se colocó en una fiola y en oscuridad durante 16 horas a temperatura ambiente, hasta lograr la estabilidad del reactivo. Posteriormente, se tomó 0,5 μL de la solución madre de ABTS utilizando Trolox

como patrón, se ajusta hasta obtener una absorbancia de $0,70 \pm 0,02$. Después de que la solución de ABTS alcance la absorbancia requerida, se toma $0,2\mu\text{l}$ de la solución patrón de trolox y se le adicionó $2,800\ \mu\text{L}$ de la solución catiónica de ABTS.

Preparación de la muestra

Las cremas formuladas al 1%, 2% y 4% se pesó 1 gramo de cada uno de ellas en un vaso precipitado y se aforó a 25 ml con metanol, una vez preparada las diluciones de 25, 50, 100 y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, se tomó 100 μl de diluciones de la crema en un tubo, se le adicionó $2,900\ \mu\text{L}$ de una solución de ABTS y se agitó por un minuto hasta homogenizar y se midió la absorbancia después de siete minutos a 734nm en un espectrofotómetro UV-Vis. Todo el análisis se realizó por triplicado (n=3).

Se emplea las siguientes ecuaciones para obtener el % de inhibición.

$$\% \text{Inhibición de ABTS} = \left(1 - \frac{A2 - A3}{A1}\right) \times 100$$

Donde:

A1: Absorbancia del ABTS en metanol

A2: Absorbancia de la muestra a los 7 minutos

A3: Absorbancia del blanco de muestra.

La concentración requerida para el 50% de inhibición del radical libre ABTS (IC) se calculó mediante la ecuación de la gráfica de concentración del extracto y trolox vs % de inhibición. El blanco será ABTS en metanol $0,1\ \text{mM}$, Como control positivo se preparó una curva patrón de trolox a las mismas condiciones de análisis de la crema, para comparar las IC. Los resultados se expresan en mM de Trolox/g de muestra.

3.7.3 Evaluación de la actividad antioxidante de la crema (método FRAP)

Se siguió el procedimiento propuesto por Benzie⁴⁷. con algunas variantes. El poder de reducción de extractos de plantas se midió de acuerdo con el procedimiento descrito por Benzie y Strain⁴⁷. El método se basa en la reducción del complejo Fe^{+3} - TPTZ (2, 4,6-tripiridil-s-triazina) (reactivo FRAP) a (Fe^{+2}) dando

lugar a la aparición de un color azul la solución con una absorción máxima observado a 593 nm. Brevemente, se preparó el reactivo FRAP.

- Se preparó buffer ácido acético de sodio 0,3 mM pH (3,6) y solución de ácido clorhídrico 40 mM se diluyó 1,55 µl en 100 ml de agua destilada.
- Solucion de TPTZ 10 mM se pesó 0,0156g de reactivo de TPTZ y se disolvió en un matraz con HCl a 40 mM,
- La solución de FeCl₃ - H₂O peso 0,275 mg y se aforó con 10 mL de metanol se preparó la curva de calibración con Trolox como patrón a concentraciones de 0,5; 1; 2; 4; 6; y 8 aforando con el metanol siguiendo el procedimiento mezclar con 25 mL de tampón acetato 300 mM (pH 3,6), 2,5 mL de solución TPTZ 10 mM en HCl 40 mM y 2.5 mL de FeCl₃ 20 mM.

Preparación de la Muestra

Las cremas elaborada al 1%, 2% y 4% se tomó 1 g de cada uno de las cremas, se aforó a 25 ml con metanol, una vez preparada las diluciones de 25, 50, 100 y 200 µL, se tomó 100 µL de las diluciones de la crema, se adicionó 2,900 µL de una solución de FRAP se agitó hasta homogenizar después de mantener a temperatura ambiente durante 30 minutos, la absorbancia se midió a 593 nm usando el espectrofotómetro el valor de FRAP se expresó en µmol de forma ferrosa (Fe⁺²) por gramo de crema (µmol Fe⁺²/g crema) Los datos se presentan como media ± de tres replicas Prueba TEAC (capacidad antioxidante equivalente de Trolox)⁴⁷.

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

Donde:

A₁: Absorbancia del FRAP en metanol

A₂: Absorbancia de la muestra a los 7 minutos

A₃: Absorbancia del blanco de muestra.

La concentración requerida para el 50% de inhibición del radical libre FRAP (IC) se calculará mediante la ecuación de la gráfica de concentración del extracto y trolox vs % de inhibición. El blanco será FRAP en metanol 0,1mm. Como control positivo se prepara una curva patrón de trolox a las mismas condiciones de análisis de la crema, para comparar las IC. Los resultados se expresan en TEAC de Trolox/g de muestra. La curva de calibración se realizará con el antioxidante

estándar Trolox a una concentración de 500, 400, 200, 100 y 50 µg/mL con el mismo procedimiento que las muestras, los valores se expresaron en equivalentes de Trolox por gramos de extractos las mediciones serán por triplicados.

a. Diseño experimental

El diseño planteado, es un diseño con pos prueba únicamente y grupo de control⁴⁹. El diseño incluye dos grupos, uno recibió el tratamiento experimental y el otro no (grupo de control) la manipulación de la variable independiente alcanza solo dos niveles: presencia o ausencia. En el estudio se incluyeron 3 concentraciones de crema, elaboradas a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bacharis salicifolia* "chilca" (1%, 2% y 4%) las cuales se preparan para la lectura en el espectrofotómetro las concentraciones de: 25, 50, 100 y 200 µg/ml y así evaluar la concentración a la cual se obtiene un mejor porcentaje de inhibición del radical DPPH, ABTS, FRAP.

Se hizo 3 repeticiones para cada ensayo y se usó como compuesto de referencia o estándar a Trolox, se realizó las comparaciones entre las pos pruebas de ambos grupos (O1 y O2) el cual nos indica si hubo o no efecto de la manipulación. Si ambas difieren significativamente ($O1 \neq O2$) esto nos indica que el tratamiento experimental tuvo un efecto a considerar. Por lo tanto, se acepta la hipótesis de diferencia de medias entre los grupos. Si no hay diferencias ($O1 = O2$) ello indica que no hubo un efecto significativo del tratamiento experimental (X). En este caso se acepta la hipótesis nula.

RG: Radical libre DPPH

[X]: Extracto hidroalcohólico

O: porcentaje de inhibición del radical DPPH, ABTS y FRAP.

b. Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron procesados en un base de datos y organizados en una matriz para calcular la media, la desviación estándar, y graficados en forma de gráficos, histogramas y barras. La diferencia significativa existente entre los tratamientos será evaluada mediante análisis de varianza (ANOVA) con una confianza del 95% y pruebas pos hoc HSD-Tukey, para cuyo efecto se recurrirá al uso del programa SPSS versión 22.0

IV. RESULTADOS

Tabla 5. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca": Ayacucho-2018.

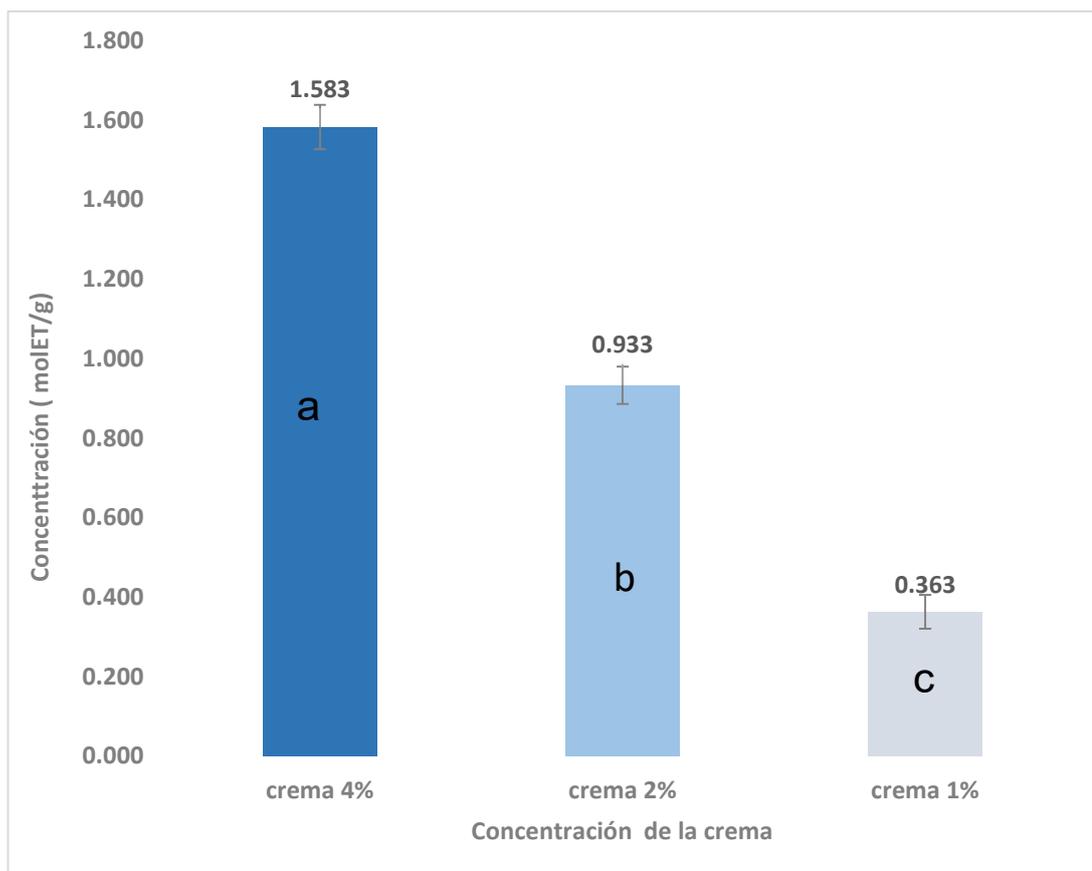
Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Fenoles	FeCl ₃	+ + + +	Coloración verde-oscuro.
Flavonoides	Shinoda	+ +	Coloración amarillo naranja carmelita
Lactonas y/O Cumarinas	Acido pícrico + NaOH 10%	++	Formación de coloración roja
Catequinas	Na ₂ CO ₃ + UV	++	Coloración verde carmelita a luz UV.
Saponinas	Espuma	++	Formación de espuma
Azúcares reductores	Benedict	++	Coloración pardo-verduzca

LEYENDA:

- (++) : Moderada
- (+++): Abundante/Intensa
- (++++): Muy abundante/muy intensa

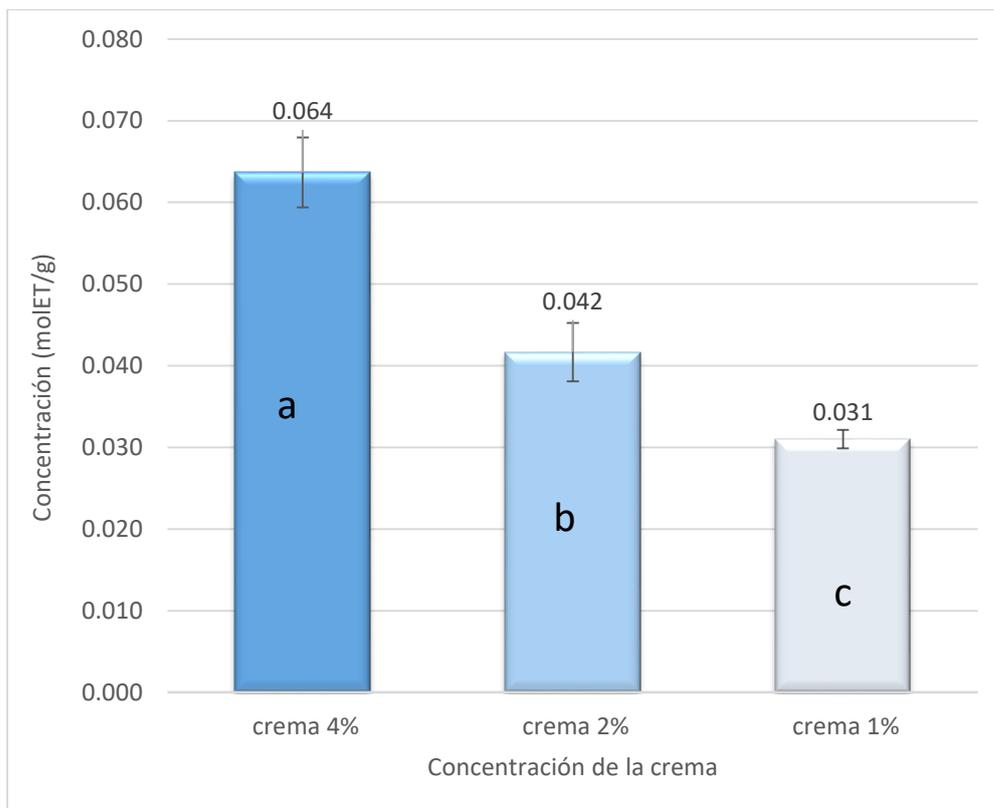
Tabla 6. Característica organoléptica, física y química de las diferentes concentraciones de crema elaboradas a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis Salicifolia* "chilca". Ayacucho 2018.

Parámetros		Formula 1%	Formula 2%	Formula 4%
Color		Verde pálido	Verde limón	Verde intenso
Olor		Astringente	Astringente	Astringente
Aspecto		Resinoso	Resinoso	Resinoso
Extensibilidad (mm ²)		6.9272 mm ²	8.2452 mm ²	9.04778 mm ²
PH		6.5	6.4	6.6
Solubilidad	Agua	poco soluble	poco soluble	poco soluble
	Alcohol	Soluble	Soluble	Soluble
	Metanol	Soluble	Soluble	Soluble
Consistencia		Altamente cremosa	altamente cremosa	Altamente cremosa
Evanescencia		Se mantiene	Se mantiene	Se mantiene
Homogeneidad		Poco homogéneo	Poco homogéneo	Poco homogéneo



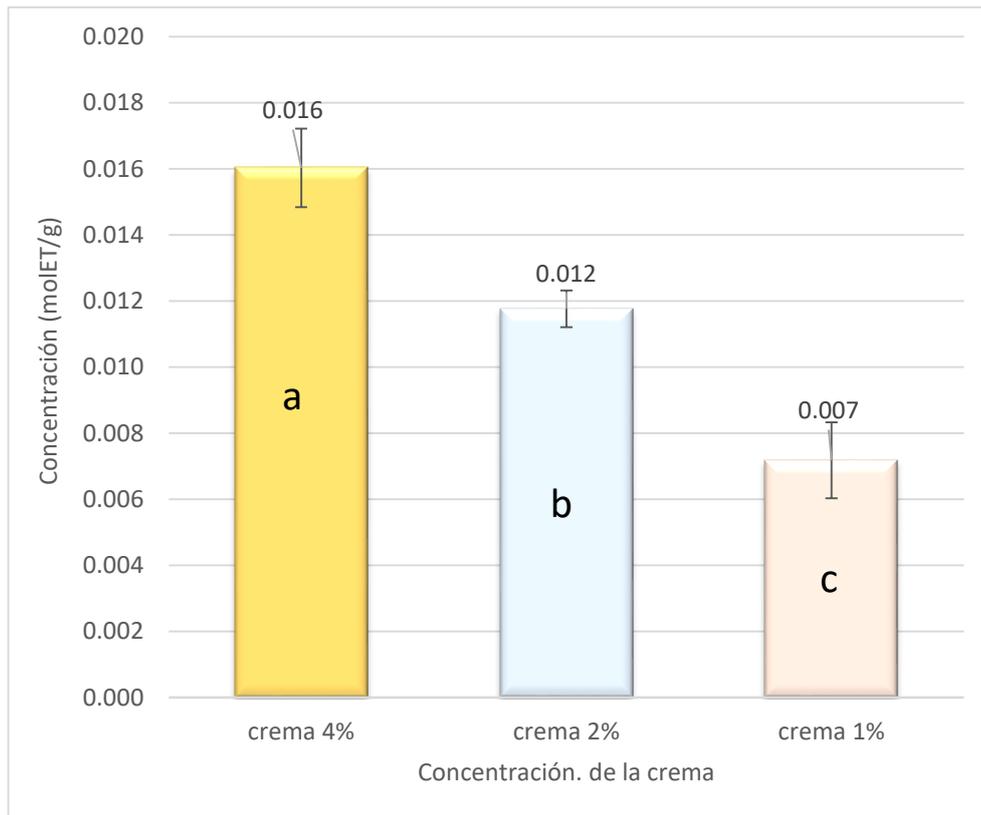
ANOVA: $p=1,24 \times 10^{-7}$

Figura 6. Actividad Equivalente Trolox (TEAC) de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" por el método DPPH. Ayacucho 2018.



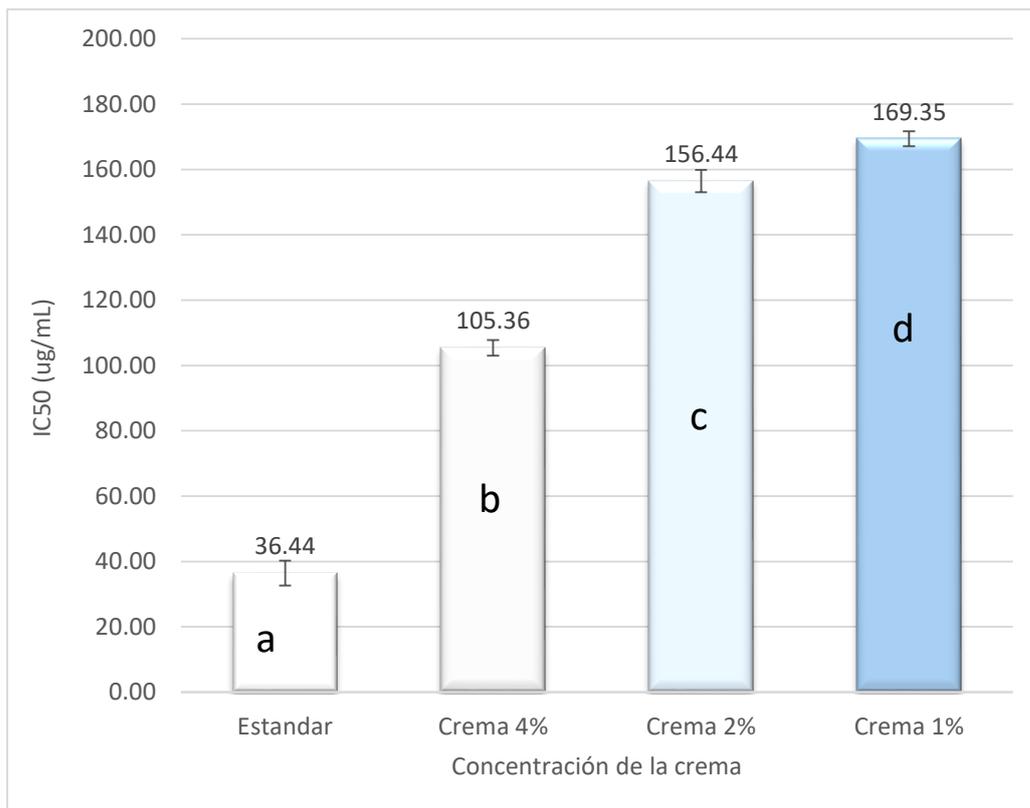
ANOVA: $p=2.9 \times 10^{-4}$

Figura 7. Actividad Equivalente Trolox (TEAC) de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" por el método ABTS. Ayacucho 2018.



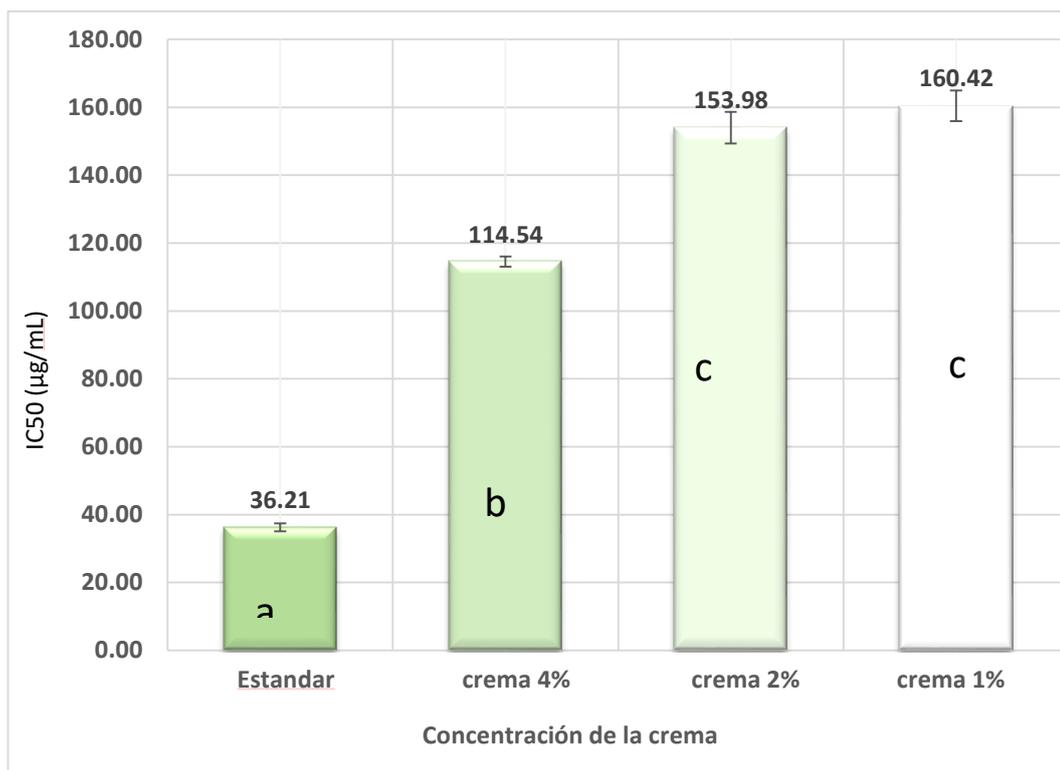
ANOVA: $p=1,1 \times 10^{-5}$

Figura 8. Actividad Equivalente Trolox (TEAC) de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" por el método FRAP. Ayacucho 2018.



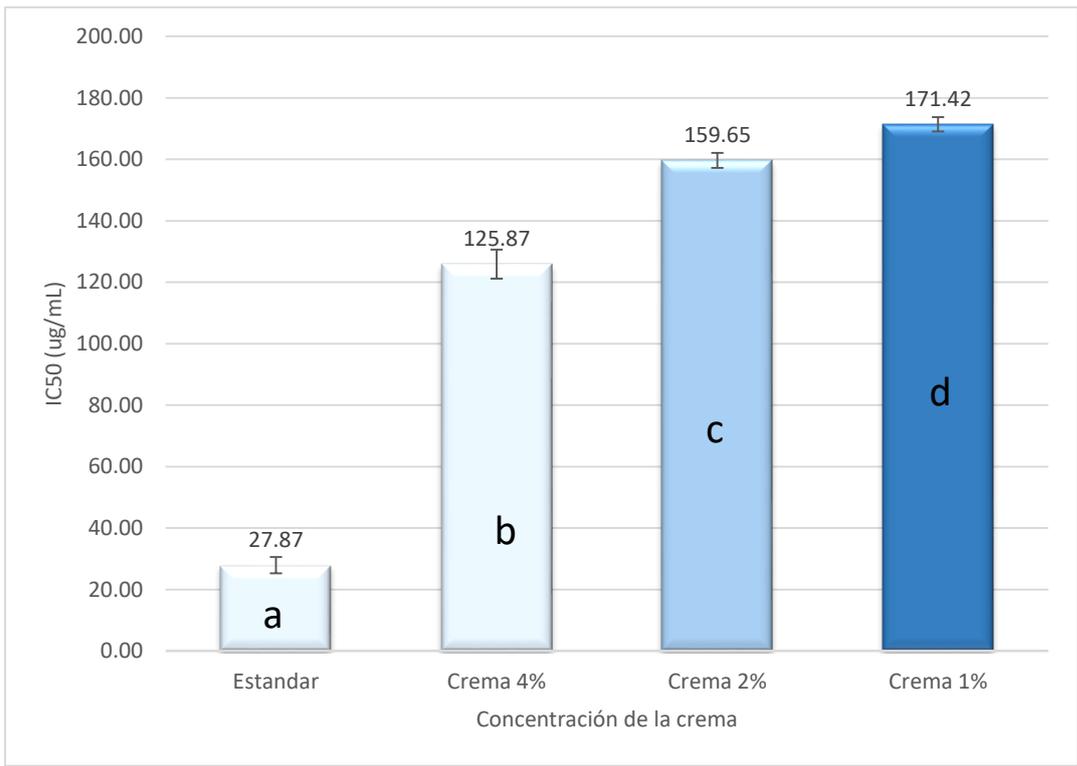
ANOVA: $p=2,31 \times 10^{-11}$

Figura 9. Concentración de crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia* "chilca" que inhibe el 50% de radical DPPH (IC₅₀). Ayacucho 2018.



ANOVA: $p=8,12 \times 10^{-11}$

Figura 10. Concentración de crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia* "chilca" que inhibe el 50% de radical ABTS (IC₅₀). Ayacucho 2018.



ANOVA: $p=1,88 \times 10^{-11}$

Figura 11. Concentración de crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de *Baccharis salicifolia* “chilca” que inhibe el 50% de radical FRAP (IC₅₀). Ayacucho 2018.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación se busca realizar una formulación de una crema a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* “chilca” a concentraciones de 1%, 2% y 4% que contenga actividad antioxidante.

En la Tabla 5, siguió el procedimiento basado por Miranda.⁵¹, se observó los resultados de ensayos de metabolitos secundarios cualitativamente, evidenciando con cada uno de los reactivos para las pruebas, con cloruro férrico se observó una coloración de verde oscuro identificando la presencia de grupos fenólicos que garantiza la actividad antioxidante, y azúcares dando una coloración verdusca y a menor proporción como flavonoides, lactonas, cumarinas, catequinas, y saponinas.

Figuroa y Ruiz⁵³. reportaron en su investigación de especie *Baccharis genistelloides* cualitativamente la presencia de flavonoides mediante una reacción de shinoda dando una coloración rojiza.

Alvarado.⁵², reportó en una investigación sobre la especie *Baccharis tricuneata* (L.f.) pers. “taya”, usada en la medicina tradicional, para identificar flavonoides en el extracto purificado de *Baccharis Tricuneata* (L.f.) Pers. “taya” mostrando mayor presencia de fenoles y flavonoides en el extracto de acetato de etilo respecto a su gran poder de estabilizar de los radicales libres y antioxidantes. Figuroa y Ruiz.⁵³, reportaron los resultados de flavonoides totales en *Baccharis genistelloides* determinándose que la capacidad antioxidante es directamente proporcional a la concentración de flavonoides que *Baccharis genistelloides* contiene flavonoides con actividad antioxidante proporcional a su concentración.

Podemos afirmar los resultados obtenidos del extracto de *baccharis salicifolia* chilca se observó fenoles en mayor proporción con respecto a otros compuestos a menor cantidad como flavonoides, lactonas y cumarinas. Antraquinonas y La

presencia de fenoles nos garantiza la actividad antioxidante de la especie de *Baccharis salicifolia*.

En la Tabla 6, se observan las características organolépticas fisicoquímico de la crema, la crema presenta un color de verde pálido, olor aromático, un sabor amargo, aspecto resinoso, soluble en metanol, soluble en alcohol y poca soluble en agua, una extensibilidad de la crema al 2% fue con mayor extensibilidad (9,0477 cm²) al 4% seguido la crema al 2% (8.2452 cm²) finalmente la de 1% (6,9272 cm²), y un promedio de pH 6,5 con una consistencia altamente cremosa y poca homogeneidad. Quispe.⁴⁸, reportó las características fisicoquímicas del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupetris Molau” romero*”, evidenciado ciertos parámetros, como las características fisicoquímico, solubilidad, pH, humedad, y cenizas totales. se puede resaltar que el pH de las cremas formuladas se encuentra entre un promedio de 6,60 que se aproxima al rango de pH especificado 4.5 a 5.9 ligeramente básico, si se observa los resultados al mismo tiempo se puede concluir que se trata de una emulsión O/W, es decir de fase externa acuoso este resultado se puede contrastarse obtenidos para la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de *Baccharis Salicifolia* “chilca”, se obtiene un pH promedio de 6,5 lo que hace suponer que se acerca dentro de lo especificado, y con lo cual garantizaría una adecuada administración y evitaría algún tipo de reacción adversa cutánea. Yambay.⁶⁰, nos indica que el pH de la crema es ácido, y esto favorece a la estabilidad de los flavonoides presentes en la crema, también ayuda a establecer que tiene un pH similar al de la piel por consiguiente presenta una favorable utilidad para la piel.

Brand-williams.⁴⁵, la técnica basada en la estabilidad del radical 1,1- difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado, también le otorga una coloración violeta caracterizada por una banda de absorción, en solución metanólico, centrada alrededor de 517 nm. Cuando una disolución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno con otra especie radical (R.) se produce la forma reducida DPPH-H o DPPH-R con la consecuente pérdida del color y por lo tanto la pérdida de la absorbancia.

En la Figura 6, se observan los resultados de actividad antioxidantes de las tres concentraciones de las cremas a base del extracto hidroalcohólico de *baccharis salicifolia* chilca a concentraciones de 1%, 2% y 4% en primer lugar se realizó una

curva de calibración con el estándar de: 0,00; 96,89; 193,78; 387,55; 581,33; 775,10 $\mu\text{g/mL}$ TEAC que en esta ocasión fue Trolox con una riqueza de 97% con una coeficiente de correlación de 0.9997, paralelamente se preparó la solución de DPPH 0.1 mMol, se le realizó un barrido espectral que resultó con la longitud de onda máxima (λ_{max}) de 517 nm, hallando así por interpolación los actividad equivalente Trolox (TEAC) de las cremas elaboradas a base del extracto hidroalcohólicos de *Baccharis Salicifolia* "chilca". se observó los resultados obtenidos de la crema en las tres concentraciones la crema al 1% dando un resultado de 0,363, al 2% 0,933 y para la crema al 4% 1,583, con mayor actividad antioxidante. Los resultados son estadísticamente diferentes entre las tres concentraciones de las cremas.

Omote.¹⁹, reportó los resultados en porcentaje de actividad antioxidante a las cremas a concentraciones de 0,5%; 1% y 2%, obteniendo resultados 99,7; 98,2 $\mu\text{g/mL}$ y 84,8 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente la crema al 2% que tiene mayor cantidad de antioxidante. Figueroa y Ruiz.⁵³, se determinaron la cuantificación de flavonoides totales en ella reportaron los resultados en porcentaje de Radical libre 2,2- difenil-1-picrilhidracil (DPPH°). De flavonoides totales de 0,64% \pm 0,0116, determinando que la capacidad antioxidante es directamente proporcional a la concentración de flavonoides. Aparcana.¹⁴, nos reportó la capacidad antioxidante del extracto etanólico a una concentración 1,6 mg/mL en rango 37,47 \pm 0,95 hasta 67,59 \pm 1,67 por el método decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo DPPH.

En la nuestra especie de *Baccharis salicifolia*, la crema al 4% mostró mayor actividad antioxidante debido a la presencia de fenoles y flavonoides, lo cual es responsable de secuestro de radicales libres a comparación con otros estudios de formulaciones en las cremas.

En la Figura 9, se determinó la Inhibición de IC₅₀ a menor concentración inhibitoria IC₅₀ se encuentra mayor capacidad de antioxidante⁵⁰. Los resultados obtenidos de IC₅₀ para las cremas fue de 105,36 al 4%; 156,44 para la crema al 2% y finalmente la crema al 1% de 169,35.

Baltonado.¹², determinó los siguientes resultados IC₅₀ en su formulación de la crema antioxidante al 0,25%, 0,5% y 1% obteniendo los resultados de la inhibición de 25,37 mg/mL, 20,05 mg/mL y 138,18mg/mL.

Figuroa y Ruiz⁵³, reportaron el IC₅₀ de 0,00015 mg/mL en la especie de *Baccharis genistelloides* demostrando conseguir una gran actividad antiradicalaria.

Prada.⁹, reportó en los extractos de *baccharis laticifolia* obtenidos a partir de las flores con un promedio de IC₅₀=30,27 µg/mL, indicando que se requiere una concentración del antioxidante baja para inhibir el 50% de la población de radicales libres respecto a los demás órganos. Con valores intermedios, en los frutos con un promedio de IC₅₀= 57,77 µg/mL; mientras que los tallos y las hojas presentaron la más baja capacidad con un promedio de IC₅₀= 103,90 y 181,26 µg/mL, respectivamente.

En nuestro estudio el IC₅₀ de la crema al 4% obtuvo mayor porcentaje inhibitoria con un resultado de 105,36 µg/mL teniendo la capacidad de inhibir el 50 % de radicales libres con respecto a las demás cremas.

En la Figura 7. Se observó los resultados de la actividad antioxidante de las tres concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *baccharis salicifolia* chilca por el método de decoloración del radical ácido 2,2,azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6sulfónico (ABTS) en primer lugar se realizó la curva de calibración como patrón utilizando trolox para el ensayo de ABTS, a partir de ella se expresó la actividad antioxidante de tres concentraciones de la crema, obteniendo los resultados en Valores de actividad equivalente de Trolox (TEAC) las cuales fueron la crema al 4% a 0,064 µmol/g crema al 2% 0,042 µmol/g y la crema al 1% 0,031 µmol/g de la crema respectivamente son estadísticamente diferentes. No existe referencia alguna de estudio de actividad antioxidante en la crema con la especie de *baccharis salicifolia* por el método de ABTS, pero si reportaron en otras especies.

Olaya. Reportó el contenido de fenoles y la capacidad antioxidantes en variedades de guayaba obteniendo valores de radicales libres por el método ABTS. El mayor valor obtenido de 24,51± 0,83 µmol/g y seguido de 24,50 µmol/g, de los frutos maduras según contrastes múltiples de rango si existen diferencias estadísticamente significativas, para la captación de antioxidantes aumentando a mayor contenido de fenoles⁵⁵. Inocente y Tomas reportaron los valores en loción y gel de la actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro, obteniendo los resultados para el (método ABTS) para la loción (FPS) de 10,897 ± 0,298 µmol/g para el gel, y 13,401 ± 0,319 µmol/g concluyendo que la loción y gel poseen propiedades

antioxidantes y factor de protección solar¹³. En nuestro caso la crema al 4% obtuvo mayor porcentaje de capacidad antioxidante por el método de ABTS debido a la presencia de fenoles y flavonoides con respecto a las demás cremas obtenidos.

En la figura 10, se observan los valores de IC₅₀ de la crema mediante el ensayo de ABTS, obteniendo los resultados de la crema hizo mediante las diluciones de 50 µg/mL, 100,0 µg/mL, 200,0 µg/mL, obteniendo los resultados para la crema al 1% (160,42 µg/mL), al 2% (153,98 µg/mL) y al 4% 111,54 µg/mL respectivamente la IC₅₀, la crema al 4% posee mayor potencial inhibitoria de antioxidante a comparación con las demás cremas elaborados, estadísticamente Anova nos da un resultados diferentes, pero a comparación con prueba de Tukey nos da un resultados estadísticamente la crema al 2% y 1% son iguales

Kanyanga R. et al⁵⁶. Reportaron en *Triclisia gillettii* el valor de CI₅₀ obteniendo un resultado de 11,44 ± 0,4 µg/mL en las fracciones de Acetato de Etilo -1.4, mostraron una buena actividad (21 < IC₅₀ < 24 µg/mL) por el método de ABTS.

Rodríguez y Andrade.⁵³, reportaron el IC₅₀ en el extracto de hojas de *Bocconia frutescens L. (Papaveraceae)* en fracción de acetato de etilo, Por el método decoloración del radical ABTS•+. Para el extracto, el porcentaje de captación se encontró entre 89.7 y 99.7 a 250 mg/L MeOH y para las fracciones entre de acetato de 68.5 y 99.6 mg/L MeOH, obteniéndose mayor resultado IC₅₀ que en los estándares, concluyendo que la actividad antioxidante es baja en relación al ácido ascórbico y trolox.

Aparcana.¹⁴, nos reportó el porcentaje de capacidad antioxidante por el método ABTS a 1,4 mg/mL en el extracto etanólico seco 15,8 ± 0,08 hasta 87,9 ± 0,19 un valor similar a otras investigaciones de la misma especie.

En la Figura 8, se observan los ensayos de FRAP basa en compuestos reducción fenólicos para reducir Fe³⁺ a Fe²⁺ en presencia de 2,4,6-tripiridil-s-triazina, la reducción en un complejo coloreado⁴³. En primer lugar, se hizo la curva de calibración con Trolox luego para expresar las concentraciones de la crema se trabajó a diluciones de 50 µg/mL, 100 µg/mL y 200 µg/mL obteniendo un resultado de la crema al 4% 0,016 µg/mL 2% 0,012 µg/mL y al 1% 0.007 µg/mL respectivamente. Obteniendo un resultado mayor en la crema al 4% con un 0,016 µg/mL a otros ensayos de antioxidantes. se observó que existe una diferencia entre las tres concentraciones de la crema.

Prada.⁹, nos reportó en su trabajo de análisis metabólico el resultado obtenido mediante un el método FRAP de 0,84 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 0,76 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para el análisis metabólico en la especie de *Baccharis laticifolia* en hojas, tallos, frutos con respecto mucho mayor a la crema de *Baccharis salicifolia*.

Olivera.⁶¹, nos reportó los valores obtenidos para el método de FRAP de 0,0714 mmoles Fe-II/g de fruto de *Rubus cyri*; 0,0963 mmoles Fe-II/g de *rubus georgicus*, 0,0971 mmoles Fe-II/g de *rubus insularis* y 0,0935 mmoles Fe-II/g *rubus ursinus*. Diferenciando valores entre hojas y frutos de *rubus*, de esta manera alcanzando el mayor porcentaje de actividad antioxidante 0,0971 mmoles Fe-II/g de *rubus insularis*, similar a los valores obtenidos de la crema.

Gaviarúa y Ochoa.⁵⁸, nos reportaron los valores de en AEAC de peroxidación lipídica de extracto de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionales* SW) obteniendo los valores 581 ± 29 de AEAC todos estos resultados son comparables o superiores a los *Vaccinium* reportados en otras investigaciones. En nuestro estudio los resultados obtenidos poseen un valor de 0.016 a la crema al 4% inferior a comparación con otras investigaciones en especies diferentes.

En la Figura 11. Se determinó IC_{50} , obteniendo los resultado para la crema al 4% 125,87, crema al 2% 159.65 y la crema al 1% 171.42, la crema al 4% obtuvo mayor potencial inhibitoria a comparación con las demás cremas, que obtuvieron menor potencial inhibitoria.

Al realizar la prueba de ANOVA para pruebas que siguen una distribución normal, donde se observó que existe una variación entre grupos en la actividad antioxidantes por el método DPPH ($p=1,24^{-7}$) de las diferentes concentraciones. Por lo cual podemos afirmar que la formulación de crema base que tuvo una mejor actividad antioxidante, es al 4%, con una actividad de 1.583 (TEAC/g) y la menor fue la crema al 1 % con una actividad de 0,363 TEAC/g.

Bustamante.⁵⁹, nos reportó en su trabajo basado en la extracción de fenoles por fluidos supercríticos, donde determinó que la extracción optima comprendía el flujo a 1000 ml CO_2/min durante 3 horas, la temperatura entre 35 y 40 °C y presión entre 150 y 200 bares, por lo que posteriormente midió la actividad antioxidante resultando 4.09 TEAC/g.

La actividad antioxidante tubo diferencias significativas en grupos de las diferentes concentraciones de crema de extracto de *Baccharis salicifolia* ($p=1,1 \times 10^{-5}$), en la

cual, la mejor actividad antioxidante se mostró en la concentración al 4% y a menor actividad, fue la crema a concentración de 1%.

Alvarado y colaboradores.⁵², determinaron que la actividad antioxidante es dependiente de la concentración del extracto, paralelamente compararon los tiempos para realizar las lecturas, demostrando que la diferencia de los valores de equivalentes Trolox aumenta a los 7 minutos, pero la diferencia no estadísticamente significativa a 1 minuto con un nivel de confianza de 95 % ($p=0,05$), por lo que se considera que un minuto es suficiente para determinar la reactividad de la crema base con el ABTS. Por otro lado, Villano et al, realizaron un estudio acerca de la dilución y el tiempo sobre la actividad oxidante de los vinos, observando que los valores obtenidos a los 2 minutos se correlacionan más con los valores de FT ($r=0,9012$) que a los 15 minutos ($r=0,8462$) concluyendo que, el tiempo óptimo para determinar la actividad antioxidante es de dos minutos.

Dicho esto, se afirma que existen diversos tiempos de reacción antes de la lectura respectiva en el espectrofotómetro, para lo cual se debería validar el tiempo óptimo para la muestra utilizada, ya que de alguna forma los resultados emitidos tendrían variaciones considerables.

VI. CONCLUSIONES

1. La crema elaborada a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca", evidenciaron una considerable actividad de estabilizar los radicales libres y esto fue de forma proporcional a la concentración de crema.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" presentó una variedad en metabolitos secundarios, tales como: fenoles, flavonoides, azúcares reductores, etc. El compuesto en mayor proporción fue los fenoles, con lo que se deduce que este compuesto está relacionado con la actividad antioxidante
3. La crema, cumplió satisfactoriamente con las pruebas fisicoquímicas tal como extensibilidad, un pH, consistencia y solubilidad. Lo cual estaría en óptimas condiciones.
4. La crema elaborada a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca", evidenciaron una notable actividad antioxidante y capacidad inhibitoria (IC50) en los tres métodos (DPPH, ABTS, FRAP), donde la mejor actividad se observó en las concentraciones de crema al 4%.

VII. RECOMENDACIONES

- Cuantificar los fenoles y flavonoides, relacionarlos con la actividad antioxidante.
- Realizar las pruebas de tolerancia de la crema y la actividad antioxidante en sistemas de ensayo *in vivo*.
- Determinar los metabolitos mediante cromatografía en capa fina.
- Validar el método de extracción y los ensayos para la determinación de la actividad antioxidante.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2th Ed. Fondo Editorial de la Pontificia Católica del Perú. Lima. 1994.
2. Alli S. Y. Adanlawo L. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of saponin extracted from the rood of *Garcinia kol* (Biter Kola) on Alloxan-Inducen diabetic rats. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Nigeria. 2014. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/290436247_garcinia_kola_a_review_of_its_ethnomedicinal_chemical_and_pharmacological.
3. Gûlcin I. Mshcildadze V. Gepdiremen A. Elias R. Antioxidant Activity of Saponins Isolated from Ivy: α -Hederin, Hederasaponin-C, Hederacolchiside-E and Hederacolchiside-F. Rev. Planta Médica. 2004. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15241892>
4. Chicaiza G. Determinación *In vitro* de la actividad antimicrobiana y antimicótica de los extractos de las plantas de *Chenopodium quinoa* "willd". [Tesis]. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud. 2014. Disponible en:
<http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/handle/28000/3484>
5. Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural. 20th ed. Ed Omega. España. 2000.
6. Loja B, Alvarado A, Salasar A, Ramos E, Jurado B. Cribado fitoquímico de *Baccharis latifolia* (R&P) Pers. (chilca). Revista Cubana de Plantas Medicinales. Lima 2017.
Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v22n1/pla151117.pdf>.
7. Orozco M, aplicación de métodos de laboratorios para el aprovechamiento de las hojas de chilca (*Baccharis latifolia*) en el diseño de un producto agroindustrial y alimentos. [tesis para optar el título profesional] Venezuela 2018.
8. Gutiérrez I, Welch W, Scull R, García V, Delgado L. Propuesta de una formulación semisólida a partir de un extracto hidroalcohólico de *Talipariti elatum* sw. [revista de ciencias Farmacéuticas y Alimentarias] ISSN 2411 RNPS 2396 vol. 3/N°2 Cuba 2017

9. Prada J. análisis metabólico de la especie *baccharis latifolia* (asteraceae) de las hojas, frutos de especie *Baccharis laticifolia* [Tesis de Grado] universidad militar nueva granada bogotá 2015.
10. Aldana C, Guayasamin L evaluación de la actividad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso de las hojas de ficus citrifolia y caracterización química de los polifenoles [tesis para obtener título]. Quito Universidad politécnica Salesiana. Ecuador 2014.
11. Prakash A, Saklani S, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Formulation and evaluation of herbal antioxidant face cream of *Nardostachys jatamansi* collected from Indian Himalayan region [Artículos de investigación] 2014.
12. Baltonado C. Evaluación de una crema dermocosmética en potencial actividad antioxidante y efecto humectante [Tesis] Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima 2018.
13. Ramos I. capacidad antioxidante in vitro y actividad regeneradora in vivo de una crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myciaria dubia*. Tesis para optar Grado Académico de Magister en ciencias Farmacéutica con mención en ciencias y Toxicología Cosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima 2017
14. Aparcana M, Y Villarreal L, realizaron una tesis titulada “Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de *Physalis Peruviana* “aguaymanto” de diferentes lugares geográficos del Perú”. Para optar el título de Químico Farmacéutico en Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima 2014
15. Inocente M, Tomas G. Huamán J, Muñoz A, García R, Palomino C, Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK) [Revista Peruana] 2014 UNMSM
16. Chura. M. efecto de la concentración de la raíz fresca de *yacón Smalanthus sonchifolia* en su capacidad antioxidante frente a la formación de radicales libres. Tesis para optar grado académico de magíster de Nutrición. Universidad Mayor de San Marcos Lima 2013.
17. Vargas H. contenidos de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies del genero *Senecio* y determinación de su actividad antioxidante in

- vitro. Tesis para optar título del Químico Farmacéutica. Universidad Nacional De San Cristóbal de Huamanga 2018
18. Martínez W. desarrollo de una formulación de crema a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl Wawillay.[tesis para optar título profesional] Ayacucho 2014
 19. Omonte A actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Mutisia acuminata* R&P. tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho 2013.
 20. López Chaupín, Flor de María Publicado: (2014) Actividad antimicótica del cremagel elaborado a base de extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a dermatofitos. Ayacucho-2013
 21. Vicuña Z, Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epiling Wayra muña. Tesis para optar título profesional] Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga Ayacucho 2012
 22. Troiani H. Las especias de *Bacharias* (Compositae) de la provincia De La Pampa. Rev. Fac. Agronomía U.N.L Pam. Arngentina. 1985. Disponible en: <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/rev-agro/v01n1-2a05troiani.pdf>.
 23. Beltrán H, Granda A, León B, Sagástegui A, Sánchez I, Zapata M. Asteraceae endémicas del Perú. Revista Peruana de Biología. 2006; 13(2):64-164.
 24. Abad MJ, Bermejo P. *Baccharis compositae* a review update. Arkivoc. 2007;7(7): 76-96.
 25. F. Ortiz, composición nutricional y funcional de algas pardas *Macrocystis pyritira* y *Durvillaea antarctica*. Monografía de la revista de la Universidad de Chile 2011 [http: repositorio.uchile/cl/monografía](http://repositorio.uchile/cl/monografía).
 26. Rinaldo, D, Mbeguie, A- Mbeguie, D fils-lycaon B, Advances on polyphenols and their metabolism in sub tropcal and tropical frutis trends in food science tecnology, 2010, (12) 599-606
 27. Duthie, G. G, GARDNER, P. T. KELE, J.A.M plant polyphenols are they the new magic bullet 2003, proc Nutri soc 203,62: 599-603.
 28. Tiwari A imbalance in antioxidant defense human diseases: multiple approbach of natural antioxidant therapy. Corrent Science 81(19) 2001

29. Rice- Evans C, Packer L. Flavonoids in Health and disease. 2a Edition. Marcel Dekker, Inc. USA.; 2003.
30. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M^a. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. 2002; 17 (6):271-278.
31. Young I. S y Woodside, J.v Antioxidants in health and disease.J.Clin (2001)
32. Pastene, E., Gómez, M., Speisky, H. y Nuñez-Vergara, L. Un sistema para la detección de antioxidantes volátiles comúnmente emitidos desde especias hierbas medicinales. Química Nova, 32 (2), 482 – 487
33. Rojas-Barquera, D., y Narváez-Cuenca, C. Determinación de vitamina C, compuestos fenólicos total y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.). Química Nova,32 (9), 2336 – 2340. (2009).
34. Clapes S. Diabetes mellitus, estrés oxidativo y embarazo. Rev. Cubana investBiomed. 2000; 19(3): 191-5.
35. Venereo, J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista Cubana de Medicina Militar, (2002). 31 (2), 126-133
36. Halliwell, B, Whiteman, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean pharmacol 2004, 142, 131 – 255.
37. Almed, J. Chaiyasit, W. Mc Clements, D, J, Decker E. Relationships between free radical scavenging and antioxidant activity in foods J. Agric FoodChem. 2009, 57, 2969-76
38. Mahantesh SP, Gangawane AK, Patil CS. Free radicals, antioxidants diseases and phytochemicals. World Research Journal of Medicinal Aromatic Plants Volume. 2012; 1(1):06-10.
39. Kumar V, y Kumar S. Plants as natural antioxidants. Natural Product Radiance.2006;5(4):326-334
40. Cabrera TC, Serrano DS. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. 2014; 14
41. Harinder P, Siddhuraju P, Klaus Becker. Methods in molecular biology: Plant Secondary Metabolites. Ed. Humana Press. EE.UU. 2007. Disponible en:
42. Reylli PM, Burkley GB. Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. Br J Surg 1990; 77:1324-5.
43. Justo R Gutiérrez V. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes [Revista Cubana de Medicina Militar] Cuba 2002.

44. Porras A. y Lopez A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas selectos de Ingenieria de Alimentos. Universidad de las Américas. México. 2009. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)
45. Brand-Williams W. Cuvilier Me, Berset C. use of a free radical method to evaluate antioxidant activity LWT-F-Food sci Tech- nol Chile 1995
46. Wootton–Berard, Peter C; Moran Aisling; Ryan; Lisa estabilidad de capacidad antioxidante total de fenoles contenidos en 23 variedades de vegetales in vitro por el método de FRAP, DPPH y ABTS y folin. Food rsearch international V44 n 1,217-224.
47. Benzie, I. y J. Strain, the ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Anal biochem 239 (2), 70-76 (1996).
48. Quispe V. Formulación de una crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris Molau* “romero”. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 2015.
49. Sampiere R, Fernández C, y Baptista P, Metodología de la investigación 4° edición Ed. Mc Graw Hill México. 2006.
50. Romani P. Actividad antibacteriana de la crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl “wawillay”. [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.; 2012.
51. Miranda M. metodo de analisis de droga y extractos. Universidad de la Habana instituto de Alimentos y Farmacia – la Habana 2000.
52. Alvarado B. Actividad antioxidante y citotoxicidad en las plantas en la cordillera negra [tesis para obter grado de magister] universidad Nacional Mayor de San Marcos Perú 2017
53. Figueroa G; Ruiz G, Gutiérrez A. Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos del extracto fluido de hojas y tallos de *Baccharis genistelloides* [revista de investigación aplicada sciéndo ciencia para el desarrollo] vol. 21, Núm 2 Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo 2018
54. Rivas C Oranday M verde M investigación en plantas de importancia medica Universidad de Autónoma Nuevo León de México Ed. OmniaScience. 2016
55. Olaya j. Restrepo. estudio del contenido de fenoles y actividad antioxidante de guayaba [revista biol. Colomb] vol. 17, núm. 3, p. 611-624, 2012. universidad nacional de Bogotá Colombia. 2012

56. compuestos fenólicos de actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*pasiflora mollissima* HBK) [Revista peruana] Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2014.
57. Rodríguez, Andrade w, Díaz F. Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae) [Revista de Tecnología Journal of Technology] Vol. 14 Núm. 2 Págs. 21-36 Colombia 2015
58. Gaviaria C. Ochoa C, et al [artículos de investigación] Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionales* SW) Universidad Nacional de Colombia 2009.
59. Bustamante J. Determinación de compuestos antioxidantes en subproducto de cacao “testa” [tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Químico]. Universidad Técnica Particular de Loja. La Universidad Católica de Loja. Ecuador; 2014.
60. Yambay P. Elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohólico de Berro (*Nasturtium officinale*) y Llantén (*Plantago major*) y comprobación de su actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones. (Tesis para optar Título de Bioquímico Farmacéutico). Ecuador. (2013).
61. Olivera G. capacidad antioxidante de averrhoa carambola frente a sistema generadores de radicales libres [tesis de Grado] Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2014

IX. ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación botánica de *Baccharis salicifolia* "chilca".
Ayacucho 2018.



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

C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Levi, SÁNCHEZ ANAYA, ha
solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Baccharis
ESPECIE	:	<i>Baccharis salicifolia</i> R. & P
SINONIMIA	:	<i>Bccharis lanceolata</i> (Kunth.)
N.V.	:	"chilca"

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

Ayacucho, 8 de Setiembre del 2017

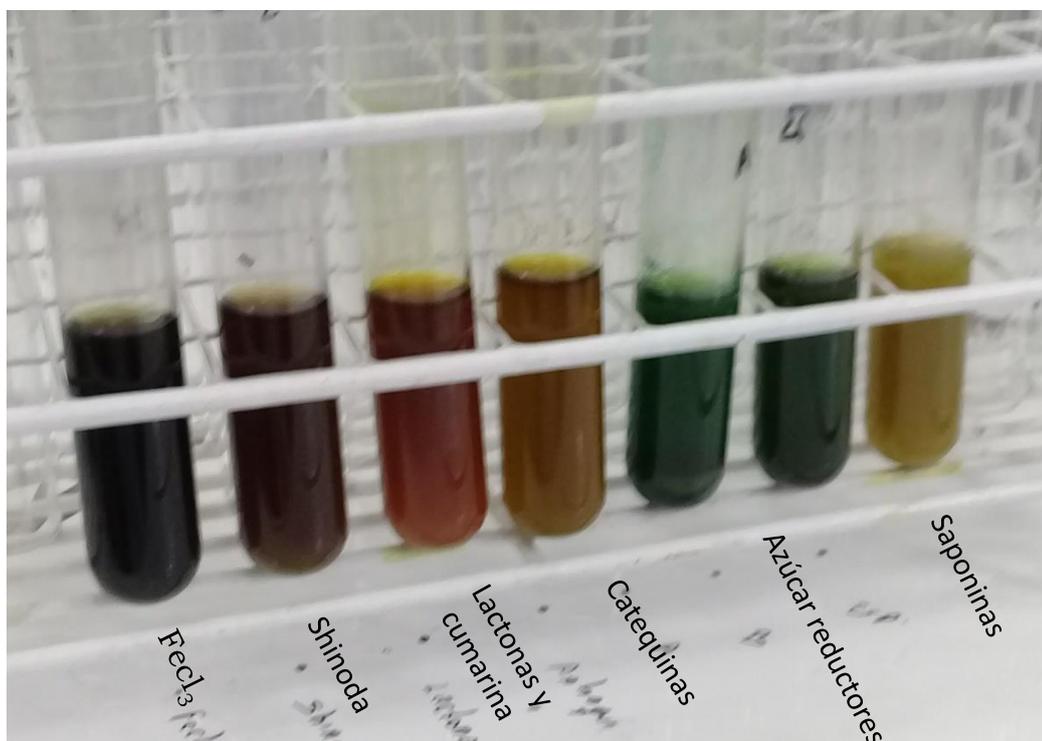
UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Dña. Lina Rocasime Medina
JEFE

Anexo 2. Fotografía de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.



Anexo 3. Metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.



Anexo 4. Crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.



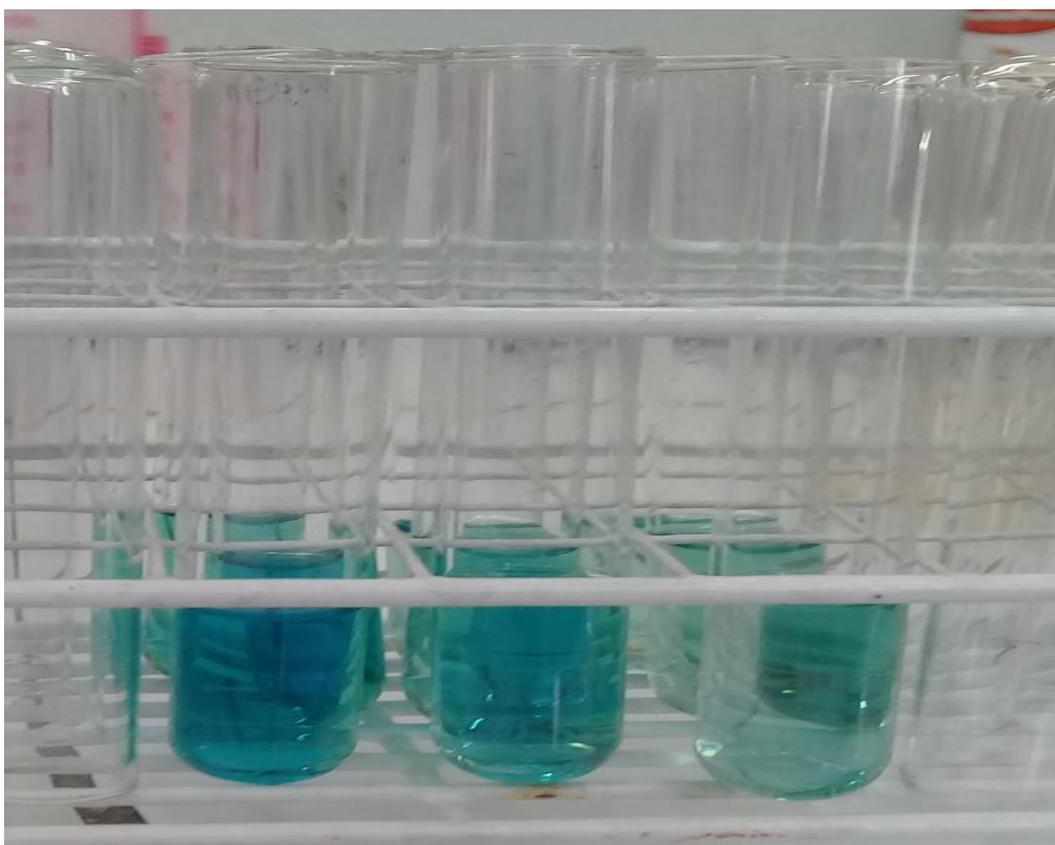
Anexo 5. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.



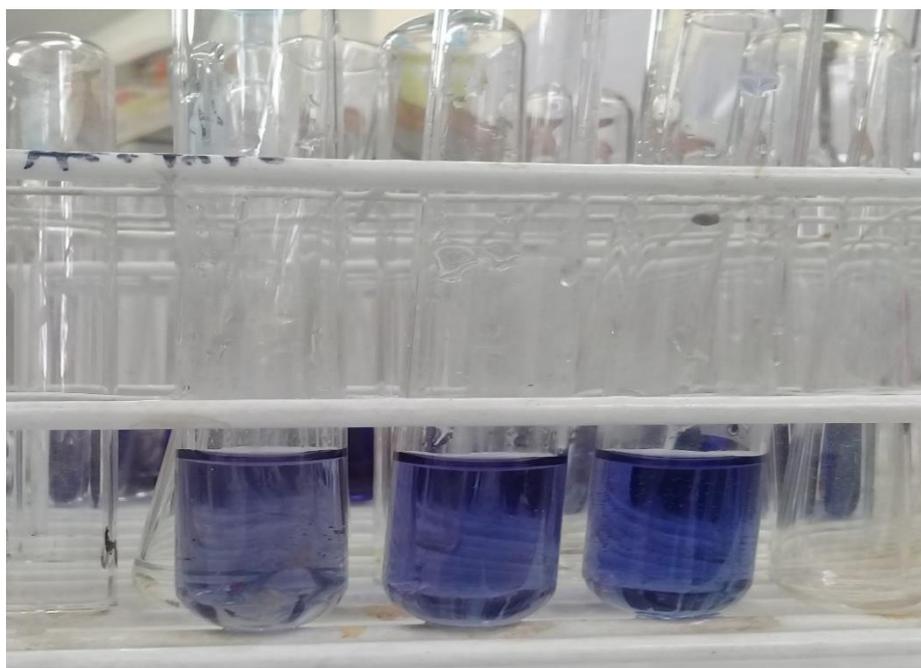
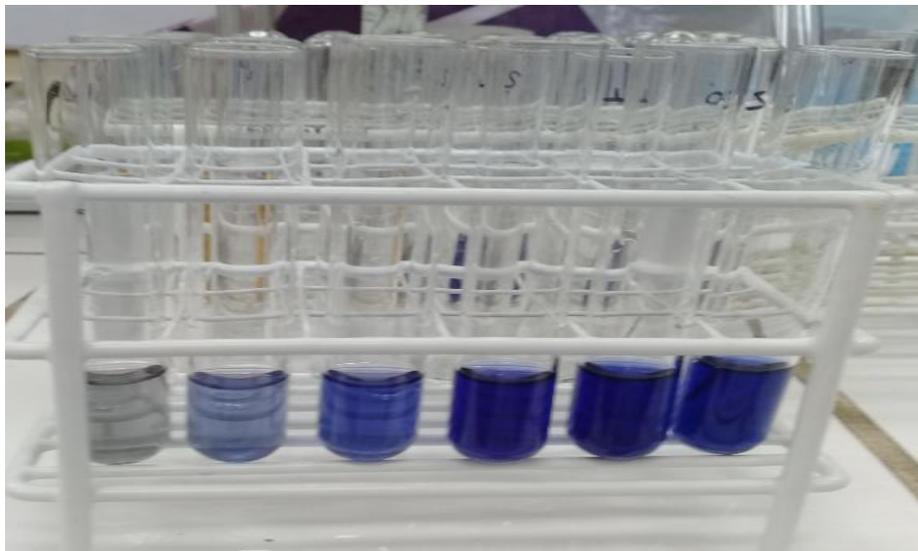
Curva de calibración del método de DPPH.



Anexo 6. Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.



Anexo 7. Determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.



Anexo 8. Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante (MoIET) por el método DPPH, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

ANOVA					
DPPH					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2,236	2	1,118	598,875	0,000
Dentro de grupos	0,011	6	0,002		
Total	2,247	8			

Anexo 9. Prueba HSD-Tukey de la actividad antioxidante (MoIET) por el método DPPH, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

DPPH				
HSD Tukey ^a				
Conc. Crema	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
crema 4%	3	0,3633		
Crema 2%	3		0,9333	
crema 1%	3			1,5833
Sig.		1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo 10. Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante (MoIET) por el método ABTS, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

ANOVA					
ABTS					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,002	2	0,001	94,397	0,000
Dentro de grupos	0,000	6	0,000		
Total	0,002	8			

Anexo 11. Prueba HSD-Tukey de la actividad antioxidante (MoLET) por el método ABTS, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

ABTS				
HSD Tukey ^a				
Conc. Crema	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
crema 4%	3	0,0313		
Crema 2%	3		0,0417	
crema 1%	3			0,0637
Sig.		1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo 12. Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante (MoIET) por el método FRAP, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

ANOVA					
FRAP					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,000	2	0,000	133,646	0,000
Dentro de grupos	0,000	6	0,000		
Total	0,000	8			

Anexo 13. Prueba HSD-Tukey de la actividad antioxidante (MoIET) por el método FRAP, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

FRAP				
HSD Tukey ^a				
Conc. Crema	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
crema 4%	3	0,0071		
Crema 2%	3		0,0118	
crema 1%	3			0,0160
Sig.		1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo 14. Análisis de varianza (ANOVA) para actividad antioxidante (IC₅₀) por el método DPPH, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

ANOVA					
DPPH					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	32766,619	3	10922,206	1520,0450	,000
Dentro de grupos	57,484	8	7,185		
Total	32824,103	11			

Anexo 15. Prueba HSD-Tukey para la actividad antioxidante (IC_{50}) por el método DPPH, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

DPPH					
HSD Tukey ^a					
Conc. crema	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
estandar	3	36,4367			
Crema 4%	3		105,3633		
crema 2%	3			156,4400	
crema 1%	3				169,3533
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo 16. Análisis de varianza (ANOVA) para la actividad antioxidante (IC₅₀) por el método ABTS, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* “chilca” Ayacucho 2018.

ANOVA					
ABTS					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	29351,656	3	9783,885	1109,733	0,000
Dentro de grupos	70,531	8	8,816		
Total	29422,187	11			

Anexo 17. Prueba HSD-Tukey para la actividad antioxidante (IC₅₀) por el método ABTS, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

ABTS				
HSD Tukey ^a				
Conc. crema	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
estandar	3	36,2133		
Crema 4%	3		114,5367	
crema 2%	3			153,9833
crema 1%	3			160,4233
Sig.		1,000	1,000	0,108

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo 18. Análisis de varianza (ANOVA) para la actividad antioxidante (IC₅₀) por el método FRAP, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

ANOVA					
FRAP					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	38199,250	3	12733,083	1601,699	0,000
Dentro de grupos	63,598	8	7,950		
Total	38262,848	11			

Anexo 19. Prueba HSD-Tukey para la actividad antioxidante (IC₅₀) por el método FRAP, de las diferentes concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis salicifolia* "chilca" Ayacucho 2018.

FRAP					
HSD Tukey ^a					
Conc. crema	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
estandar	3	27,8700			
Crema 4%	3		125,8700		
crema 2%	3			159,6500	
crema 1%	3				171,4233
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

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

Anexo 23. Matriz de consistencia. Ayacucho 2018.

Título	Problema	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Metodología
Actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca". Ayacucho – 2018.	¿Qué capacidad antioxidante tendrá la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca"?	Objetivo general: demostrar la actividad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca". Objetivos específicos: -Identificar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" -Evaluar los parámetros fisicoquímicos de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca". -Determinar la mejor concentración de crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" genera mejor captación de radicales libres.	-Descripción Botánica -Usos medicinales -Antecedente -Ácidos fenólicos -Flavonoides -Radicales libres -Estrés oxidativo -Antioxidantes -Sistema de protección antioxidante - DPPH - ABTS - FRAP	Hipótesis nula La crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" posee actividad antioxidante. Hipótesis alterna La crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" no posee actividad antioxidante.	Variable independiente: ¿Concentraciones de la crema elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca"? Indicadores Pruebas fitoquímicas, pruebas fisicoquímicas Variable Dependiente: Actividad antioxidante la crema Indicadores: Umol/eqTrolox, Porcentaje de inhibición del radical DPPH, IC ₅₀	Tipo de investigación: Básica-Experimental. Población Hojas de <i>Baccharis salicifolia</i> "chilca" que crece en el distrito de Quinua, provincia de Huamanga, Región Ayacucho. Muestra: 500 mg de hojas. Método: la evaluación de la actividad antioxidante se llevó a cabo según los métodos propuesto por Brand Williams, Inocente y Benzie. Análisis estadístico. Los datos obtenidos fueron organizados en una matriz para calcular la media y la desviación estándar, y graficados en forma de gráficos, histogramas y barras. La diferencia significativa existente entre los tratamientos será evaluada mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 95%. Las comparaciones entre cada tratamiento se harán con pruebas Pos Hoc HSD-Tukey, para cuyo efecto se acudió al uso del programa SPSS versión 22.0