

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y

BIOQUÍMICA



**Actividad antioxidante de las hojas de *Baccharis
tricuneata* "yana taya". Ayacucho – 2012**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:

Bach. HUARANCCA QUISPE, TANIA MARGOTH

AYACUCHO-PERÚ

2013

DEDICATORIA

A Dios.

A mis padres Alfonso y Margarita.

A mis hermanos Kleber, Ivan y a mi
hermana espiritual Gina.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; lugar donde se forjan los profesionales de la sociedad.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, y en especial consideración a los docentes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, que contribuyeron a mi formación profesional, impartiendo sus conocimientos y experiencias.

A mi asesor Dr. Q.F. Edwin Enciso Roca y a todas las personas que brindaron su apoyo para el desarrollo del presente trabajo, cuyo apoyo y conducción fue indispensable en todo momento.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE	iv
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Principales constituyentes del género <i>Baccharis</i>	5
2.3. Distribución geográfica del género <i>Baccharis</i>	6
2.4. <i>Baccharis tricuneata</i> "yana taya"	6
2.5. Radicales libres	9
2.6. Antioxidantes	10
2.7. Compuestos fenólicos	11
2.7.1. Flavonoides	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Lugar de ejecución	17
3.2. Definición de la población y muestra	17
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	17
3.3.1. Recolección e identificación de muestra	17
3.3.2. Preparación de extractos	18
3.3.3. Tamizaje fitoquímico	18
3.4. Prueba cromatográfica	19
3.5. Prueba espectral	19
3.6. Determinación de la actividad antioxidante	20
3.7. Análisis de datos	22
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	34
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	39

**Actividad antioxidante de las hojas de *Baccharis tricuneata* “yana taya”.
Ayacucho – 2012.**

Autor: Bach. Tania Margoth HUARANCCA QUISPE.

Asesor: Dr. Q.F. Edwin Enciso Roca.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad antioxidante de las hojas de *Baccharis tricuneata* “yana taya” durante los meses de Agosto 2012 a Enero 2013, en el Laboratorio del área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. La muestra fue colectada en el distrito de Quinua del departamento de Ayacucho, obteniendo el extracto hidroalcohólico de las hojas y el fraccionamiento por extracción con diferentes solventes: éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo y con agua de los cuales se realizó el tamizaje fitoquímico tal como describe Lock de Ugaz (1994) y Miranda y Cuellar (2000), complementando con la cromatografía y UV visible; la actividad antioxidante, se evaluó por la captación del radical DPPH (1,1 difenil-2 picril hidrazilo), tal como describe Castañeda y Col. (2008).

Los metabolitos secundarios hallados son: flavonoides, taninos y/o fenoles, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos, lactonas y/o cumarinas, glicósidos cardiotónicos y alcaloides. El extracto hidroalcohólico, la fracción clorofórmica, la fracción acetato de etilo y la fracción acuosa tuvieron una actividad antioxidante superior al 50 %; y la fracción de acetato de etilo fue la que mostró la mejor actividad antioxidante. Se concluye que las hojas de *Baccharis tricuneata* “yana taya” tiene actividad antioxidante, siendo la fracción de acetato de etilo la que concentra los metabolitos secundarios con mejor actividad antioxidante.

Palabras clave: actividad antioxidante, *Baccharis tricuneata*.

I. INTRODUCCIÓN

En países como Perú, poseedores de una alta biodiversidad, resulta especialmente importante el estudio de partes de un vegetal, de extractos o de sustancias puras aisladas que presentan significativa actividad terapéutica.

Las evidencias experimentales sugieren que los radicales libres (RL) y las especies reactivas de oxígeno (ERO) pueden estar relacionadas con un gran número de enfermedades. Como las plantas producen gran cantidad de fracciones químicas que actúan como antioxidantes para controlar el estrés oxidativo causado por la radiación solar y el oxígeno, pueden servir de fuente para la obtención de nuevos compuestos antioxidantes (Bafna y Mishra, 2005).

Numerosos estudios en nutrición humana, demuestran una estrecha correlación entre el consumo de frutas y verduras y la menor incidencia de enfermedades crónico degenerativas, debido a su bajo contenido en colesterol y a la presencia de vitaminas, fibras, antioxidantes naturales y minerales. Así mismo, el estrés oxidativo ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades humanas, como: arterioesclerosis, artritis, demencia, cáncer, etc; es por ello que el uso de antioxidantes, es estudiado de forma intensiva, en farmacología; particularmente, en el tratamiento de accidentes cerebrovasculares y enfermedades

neurodegenerativas. Actualmente, se sabe que tanto por causas ambientales (radiación), así como por la ingesta de algún contaminante o incluso como consecuencia de nuestro propio metabolismo, surgen algunas moléculas que nos pueden provocar daño. A estas se les conoce como especies oxígeno reactivas (ROS), que se asocian a enfermedades como cáncer, problemas cardiacos o al natural envejecimiento humano. Entre los problemas que originan figuran: destrucción de paredes celulares, inactivación de enzimas, debilitamiento de la capacidad defensiva, alteración del sistema inmunológico e incluso daño del material genético (Castañeda y Col., 2008).

Estudios recientes demuestran que ciertos productos de las plantas incluyen sustancias fenólicas, como flavonoides y taninos. Estas sustancias antioxidantes naturales tienen normalmente una fracción fenólica en su estructura molecular. Los ácidos orgánicos, carotenoides, hidrolizados de proteínas y taninos pueden actuar como antioxidantes o tener efectos sinérgicos cuando se utilizan conjuntamente con antioxidantes fenólicos. Los antioxidantes fenólicos tienen un gran poder destructor de radicales libres (Bafna y Mishra, 2005).

Los compuestos fenólicos, componentes biológicamente activos, son los principales agentes que pueden donar grupos hidroxilo a los radicales libres y de esta forma romper la cadena de la oxidación lipídica en el primer paso de iniciación. Este elevado potencial de los compuestos fenólicos para el barrido de radicales se puede deber a sus grupos hidroxilo fenólicos (Castillo y Col., 2010).

Al ver que muchas enfermedades aquejan a nuestra sociedad en estas épocas modernas, el presente trabajo trata de dar una alternativa frente a sus problemas de salud y de esta manera mejorar el desempeño cotidiano, con una buena salud dentro de esta sociedad.

El trabajo que se desarrolló fue determinar la actividad antioxidante de los diferentes extractos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya", para lo cual se utilizó al DPPH como un radical libre estable, el cual se enfrentó con los diferentes extractos obtenidos (extracto etanólico, extracto etéreo, extracto clorofórmico, extracto acetato de etilo, extracto acuoso), dando como resultados positivos la disminución de la coloración del DPPH, que va de un color violáceo hasta el desvanecimiento de dicha coloración, comparándose con el estándar de la vitamina C y quercetina a las mismas condiciones.

Objetivo General:

- Evaluar la actividad antioxidante de los diferentes extractos obtenidos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".

Objetivos Específicos

- Realizar pruebas para identificar los metabolitos secundarios presentes en el los diferentes extractos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".
- Comparar la actividad antioxidante de los diferentes extractos obtenidos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Aronés (1999), realizó el análisis fitoquímico y determinación del efecto antiinflamatorio de *Baccharis salicifolia* "chilco"; encontrando flavonoides y otros metabolitos responsables de dicha actividad.

Castro (2002), evaluó la actividad citoprotectora gástrica de *Baccharis genistelloides* "kimsa cuchus"; demostrando la presencia de flavonoides y otros metabolitos responsables de dicho efecto terapéutico.

Aguilar y Col. (2006), realizó un estudio de la etnobotánica, fitoquímica y farmacología de especies del género *Baccharis* (Asteraceas) utilizadas como plantas medicinales en el departamento de Ayacucho, en la cual hace mención a la especie *Baccharis tricuneata* como antiinflamatorio.

Rojas (2009), realizó estudios para la determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Baccharis tricuneata* "yana taya" en ratas albinas, demostrando dicho efecto.

De igual manera cabe mencionar trabajos de investigación realizados en diferentes universidades:

Hoyos (2008), realizó el diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* "chilca", demostrando el efecto antiinflamatorio en ratas, este trabajo fue realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Díaz y Col. (2007), evaluó la actividad antiinflamatoria de una crema a partir del extracto purificado de *Baccharis tricuneata* (L.f.) Pers. "taya"; demostrando que las sustancias fenólicas presentes en el extracto son los responsables de dicha actividad, este trabajo fue realizado en la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica.

2.2. Principales constituyentes del género Baccharis

En todas las especies del género *Baccharis* se han identificado diversos metabolitos secundarios. Los metabolitos secundarios son sustancias que tienen una estructura compleja, que puede presentarse en una especie o en grupos de especies afines. Su función dentro de la planta es poco conocida. Son estos metabolitos secundarios, presentes a veces en concentraciones muy bajas, los que ejercen un efecto fisiológico o farmacológico sobre el hombre (García, 2007).

Los compuestos que más se destacan en el género *Baccharis* son los flavonoides, clerodanos y labdanos, aunque también se ha observado con cierta frecuencia la presencia de kauranos, triterpenos, germacreno, ácidos cumáricos, tricotecenos, sesquiterpenos y fenilpropanóides. Entre las especies más investigadas en cuanto a la composición química y actividad biológica, se encuentran *B. megapotamica*, *B. incarum*, *B. trimera*, *B. trinervis*, *B. salicifolia*, *B. crispa*, *B. coridifolia*, *B. dracunculifolia*, *B. grisebachii* y *B. tricuneata* (Gonzaga y Col., 2005).

Los flavonoides y otros compuestos fenólicos, diterpenoides y componentes volátiles han sido reportadas como las más importantes fito-componentes del género *Baccharis* (Abad y Bermejo, 2007).

2.3. Distribución geográfica del género *Baccharis*

El género *Baccharis* es el más rico en especies dentro de la tribu Asteraceae. Su distribución geográfica es exclusivamente americana: se extiende desde el sur de los Estados Unidos de América hasta el extremo austral de Argentina y Chile. En esta vasta área se encuentra profusamente diversificado, ocupando gran variedad de ambientes y constituyendo un importante elemento en numerosas formaciones vegetales (García, 2007).

Baccharis tricuneata es una especie panandina. La distribución es discontinua llamando la atención un gran vacío entre Colombia y Ecuador y otro mucho mayor desde el paralelo 17° al 36° Sur aunque falta mucho por explorar estos vacíos no pueden interpretarse solo por la falta de datos. Es indudable que en gran parte existen y que son causadas por desigualdades de condiciones ecológicas a lo largo de la cadena andina (Cuatrecasas, 2001).

2.4. *Baccharis tricuneata* “yana taya”

2.4.1. Taxonomía

La descripción taxonómica estuvo a cargo de la Bióloga Laura Aucasime Medina, según el herbario Huamangensis (Anexo N°01).

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	<i>Baccharis</i>
ESPECIE	:	<i>Baccharis tricuneata</i> (LF.) Pers.
N.V.	:	“yana taya”

2.4.2. Descripción botánica de *Baccharis tricuneata*

Arbusto de hasta 1,2 m de altura, muy ramificado y lignificado desde la base, apretado de follaje en las partes terminales y distinguibles por sus hojas pequeñas, coriáceas y muchas de borde entero. Las flores se reúnen en cabezuelas o capítulos, blanquecinas, pequeñas, axiales o terminales de 0,5 a 1 cm. de longitud, solitarios o en grupos de dos a más, multibracteadas, con péndulos cortos, de dos a tres mm. de longitud de color blanquecino. Flores: la especie es dioica. Flores masculinas de unos 0,7 mm de longitud, el papus y la corola pilosos, ésta con cinco dientes en la parte terminal. Los estambres son cinco, con anteras muy alargadas y amarillas cuando frescas. En las flores masculinas el gineceo es reducido (infértil) y el estigma brevemente excerto. Flores femeninas algo más grandes que las masculinas, con el papus glabro, la corola filiforme, raramente pilosa en la parte distal, conteniendo en su interior el gineceo que es excerto (Paca y Col, 2003).

2.4.3. Composición química

Rojas (2009), en el trabajo de investigación denominado determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Baccharis tricuneata* "yana taya", ha identificado metabolitos secundarios como: alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, compuestos triterpénicos y/o esteroides, azúcares reductores, lactonas, cumarinas, glicosidos cardiotónicos, aminoácidos y grupos amina.

En los informes sobre la composición del aceite esencial de las partes aéreas de *Baccharis tricuneata* (L.F.) Pers. var. *ruiziana* Cuatrecasas, reportan un alto porcentaje de nerolidol (68 %) y la presencia en menor cantidad de monoterpenos, seguido de hidrocarburos de sesquiterpeno y sesquiterpenos oxigenado (Abad y Bermejo, 2007).

En el trabajo de investigación de Gonzaga y Col. (2005), menciona a la flavanona identificada como 5,4'-OH-7-OMe-Flavanona (sakuranetina), como uno de los flavonoides presentes dentro de la especie *Baccharis tricuneata*.

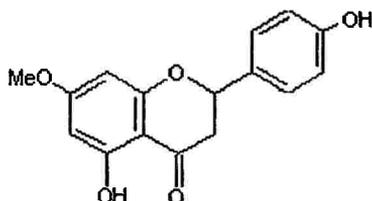


Figura 1. Sakuranetina

2.4.4. Propiedades farmacológicas

Esta planta es utilizada en el tratamiento de heridas, úlceras, fiebre, enfermedades gastrointestinales, diuréticas, analgésicas, tratamientos de diabetes, antibiótico y mordedura de serpiente. La especie *Baccharis tricuneata* (L.F.) Pers. popularmente llamada “taya” es utilizada como emplastos de hojas y en el tratamiento de infecciones de piel, inflamación y diabetes. Estudios realizados demostraron la presencia y elucidación de metabolitos activos, los cuales son los responsables de la actividad antiinflamatoria y antibacteriana (Diaz y Col., 2007).

Baccharis tricuneata (L.F.) Pers. (Sanalotodo) se usa en Venezuela como decocciones o infusiones de hojas y tallos para infecciones de la piel y la diabetes. (Abad y Bermejo, 2007).

Aproximadamente 60 especies del género *Baccharis* de acuerdo a la revisión etnofarmacológica; tradicionalmente son empleadas como antiinflamatorias en luxaciones, torceduras, heridas, golpes, inflamaciones articulares y de las vías urinarias. También se ha descrito el uso como analgésicos en la migraña, en dolores corporales y dolores menstruales. Trabajos realizados sobre algunas especies del

género *Baccharis* reportan actividad antiinflamatoria, actividad gastroprotectora, actividad analgésica (Gonzales y Col., 2007).

2.5. Radicales libres

Los radicales libres (RL) son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón no apareado (aquel que ocupa una órbita atómica o molecular por sí mismo), pueden existir de forma independiente y que, debido a la inestabilidad de su configuración electrónica, son generalmente muy reactivos. Esta reactividad es la base de su toxicidad y de su corta vida (Vaya y Aviram, 2001).

La generación de RL no se ha de relacionar siempre con su toxicidad debido a que la función que desarrollan presenta dos caras opuestas, por un lado actúan como mediadores y reguladores a concentraciones fisiológicas, mientras que a concentraciones elevadas pueden actuar como potentes oxidantes citotóxicos.

En los sistemas vivos se generan muchos tipos de radicales libres, siendo los más conocidos los radicales del oxígeno. Se utiliza el término Especies Reactivas del Oxígeno (reactive oxygen species, ROS) como nombre colectivo para referirse a las especies derivadas del oxígeno, incluyendo tanto los derivados radicales como los no radicales, que son agentes oxidantes y/o fácilmente convertibles en oxidantes. De forma análoga existen Especies Reactivas del Nitrógeno (RNS), del cloro (RCIS) y del bromo (RBrS).

Debido al propio funcionamiento del metabolismo aeróbico, pequeñas cantidades de ROS se generan constantemente en el organismo, la mayoría a partir de las cadenas de transporte de electrones. Destacan el radical hidroxilo (OH), el anión superóxido (O_2^-), y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Ugartondo, 2009).

Las principales fuentes de radicales libres en nuestro organismo pueden generarse a partir de fuentes endógenas, relacionadas con el metabolismo del oxígeno y con

las diversas reacciones de defensa de nuestro sistema inmunitario, o de fuentes exógenas, como el tabaco, la contaminación del aire, la radiación UV, el ozono y ciertos medicamentos. Aunque la exposición a los ROS procedentes de fuentes exógenas sea extremadamente elevada, la exposición a fuentes endógenas es mucho más importante y extensa, debido a que es un proceso que se da en forma continua en las células de nuestro organismo a lo largo de la vida (Ugartondo, 2009).

2.6. Antioxidantes

Gutteridge y Halliwell (1999), definieron “antioxidante” como “cualquier sustancia que, cuando está presente a bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de este sustrato”.

Los antioxidantes son un grupo de moléculas reconocidas por su capacidad para neutralizar los radicales libres, estas sustancias han surgido como una alternativa para combatir las deficiencias asociadas al estrés oxidativo (Ugartondo, 2009).

Los antioxidantes constituyen un grupo de sustancias que, cuando están presentes en bajas concentraciones (en relación con otros compuestos oxidables), inhiben o retrasan los procesos oxidativos, a través de un mecanismo que suele conllevar su propia oxidación. Los suplementos antioxidantes, o los alimentos que contienen antioxidantes, pueden ser usados para reducir los daños oxidativos relacionados con la edad y con enfermedades como la arteriosclerosis, diabetes, cáncer, cirrosis, etc. (Vaya y Aviram, 2001).

Los antioxidantes pueden actuar en los diferentes procesos de la secuencia oxidativa y tener más de un mecanismo de acción (Halliwell y Gutteridge, 1999).

Para que un antioxidante tenga actividad antiradicalaria debe cumplir una característica básica que es generar un radical más estable y menos dañino,

después de reaccionar con la especie radical esta reacción se basa en una transmisión redox en la que está implicada la donación de un electrón (o un átomo de hidrogeno) a la especie radicalaria. Como resultado de esta transferencia, se formara un radical derivado del antioxidante que puede tener carácter inerte, estable o presentar cierta reactividad (Ugartondo, 2009).

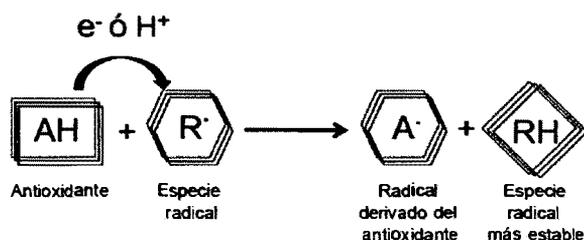


Figura 2. Mecanismo antiradicalario (Ugartondo, 2009).

2.7. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenólicos constituyen un grupo considerable de compuestos que pueden definirse, de una forma concisa y desde el punto de vista químico como compuestos orgánicos presentes en la naturaleza que poseen, al menos, un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilo unidos a él (esos grupos funcionales pueden ser sustituidos por ésteres, metil-éster, glicosidos, etc.), aunque una definición más precisa se basa en su origen metabólico como aquellas sustancias derivadas del metabolismo de la ruta del shikímico y de los fenilpropanoides.

Los compuestos polifenólicos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, principalmente en forma de subproductos generados por el metabolismo, apareciendo como metabolitos secundarios en todas las plantas (Muñoz y Col., 2007).

La naturaleza química de los compuestos polifenólicos es muy heterogénea y engloba un amplio surtido de disposiciones estructurales de familias de polifenoles

que pueden englobar desde estructuras libres a conjugadas (estructuras polifenólicas unidas a otras sustancias de distinta naturaleza). Así, los flavonoides son compuestos polifenólicos que reflejan un gran número de estos diseños estructurales (Muñoz y Col., 2007).

2.7.1. Flavonoides

Las plantas superiores sintetizan una amplia variedad de compuestos fenólicos durante su crecimiento y desarrollo, entre ellos, los flavonoides. Estos compuestos, se originan mediante una ruta biosintética mixta (a través de la ruta del ácido shikímico y la ruta de los policétidos), intervienen en los vegetales en la formación de pigmentos (contribuyendo a la coloración de frutos, flores y hojas), en la protección frente a la radiación ultravioleta, en la defensa durante la interacción planta-patógeno y, posiblemente, modificando la acción de distintas hormonas vegetales (auxinas y citoquinas) (Villar del Fresno, 1999).

2.7.1.1. Estructura química

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6' 12 (Figura 3.) (Lock de Ugaz, 1994).

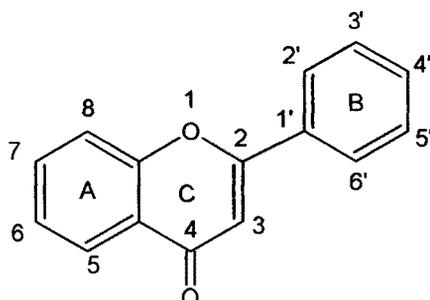


Figura 3. Núcleo básico de un flavonoide (Lock de Ugaz, 1994).

Los flavonoides, en general, poseen capacidad para neutralizar radicales libres, responsables, cuando están dotados de un alto grado de reactividad, de la aparición de determinadas patologías o del agravamiento de las mismas. Esta acción antirradicalaria es, en algunos casos, heterogénea en relación a los distintos tipos de radicales libres (anión superóxido, radical hidróxilo, etc.). Diferentes grupos de flavonoides interaccionan *in vitro* con el radical libre estable 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), lo que se utiliza para poner de manifiesto de manera general, su actividad antirradicalaria.

La capacidad de los flavonoides para prevenir la oxidación del ácido ascórbico es un hecho reconocido en la protección de esta vitamina en los zumos frescos de frutas. Es obvio que tal propiedad provee a los flavonoides de una actividad protectora de los sustratos oxidables (por ejemplo, membranas lipídicas).

Las investigaciones recientes inducen a pensar que existe una base común que explicaría los efectos farmacológicos de los flavonoides, considerándose la actividad antioxidante como la más probable para jugar este papel (Bruneton, 2001).

Los flavonoides, en general, no parecen ser tóxicos. Consumidos en la dieta habitual en cantidades apreciables (alrededor de un gramo diario, por término medio) podrían proporcionar a nuestro organismo a niveles significativos para ejercer algunas acciones farmacológicas de la amplia gama que poseen. Con el fin de estudiar la posible asociación entre el consumo de flavonoides con la dieta y la potencial reducción de la morbilidad y mortalidad coronaria, se ha llevado a cabo un estudio de cohorte con 5133 pacientes, durante más de veinte años. El análisis estadístico de los datos han permitido determinar una relación inversa entre la ingestión de flavonoides y mortalidad por enfermedad coronaria, lo que podría deberse a que el efecto antioxidante de los flavonoides ejerza una protección de las

lipoproteínas de baja densidad (LDL), previniendo o retrasando el desarrollo de la aterosclerosis (Villar del Fresno, 1999).

2.7.1.2. Clasificación de los flavonoides

Las variaciones estructurales en los anillos permiten subdividir a los flavonoides en seis subclases (Figura 4): flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavanoles y antocianidinas (Manach y Col., 2004).

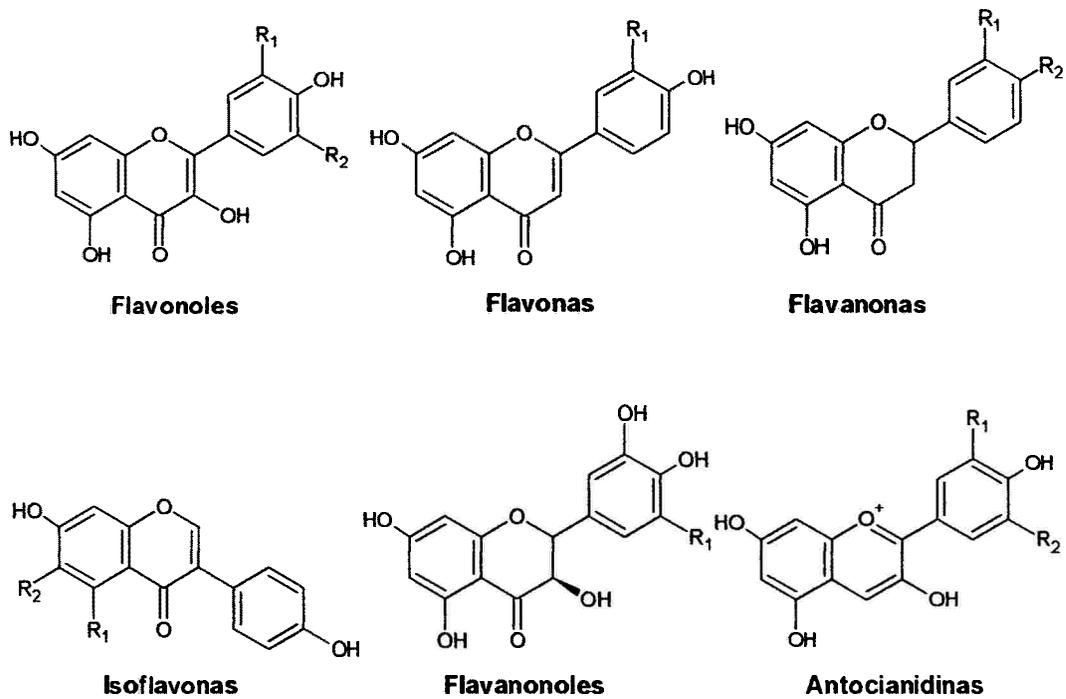


Figura 4. Estructura de los flavonoides más comunes en la naturaleza (Manach y Col., 2004).

2.7.1.3. Actividad antioxidante de los flavonoides

Los flavonoides forman parte del denominado sistema de defensa antioxidante exógeno del organismo, es decir, aquellas defensas que se adquieren a través de la dieta. Existen tres tipos de mecanismos que pueden explicar la actividad antioxidante de estas defensas:

1. La transferencia de electrones que determina que el antioxidante se transforme en una molécula radical activa.
2. La transferencia de electrones que determina la formación de una molécula antioxidante inactiva o estable.
3. Pequeñas moléculas que actúan como enzimas antioxidantes.

El mecanismo por el cual ejercerían su actividad antioxidante los flavonoides sería la transferencia de electrones que conlleva la aparición de una molécula radical activa, pero también estaría implicada la capacidad de estos compuestos para quelar metales (Cadenas, 1997).

Los flavonoides deben cumplir dos requisitos más para ser considerados moléculas antioxidantes: Primero.- A bajas concentraciones deben proteger a los compuestos contra la oxidación o el daño por radicales libre y Segundo.- El radical flavonoide formado (llamado radical aroxilo) debe ser lo suficientemente estable para que la función antioxidante sea efectiva. También es importante la accesibilidad del flavonoide al radical oxidante (Halliwell, 1995).

Con respecto a su estructura, los flavonoides con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B se muestran más activos como antioxidantes y es potenciado este efecto por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4. Además, las agliconas se muestran más potentes en sus acciones antilipoperoxidativas que sus correspondientes glicósidos (Escamilla y Col., 2009).

Conforme a lo mencionado anteriormente, la quercetina es el flavonoide que reúne los requisitos para ejercer una efectiva función antioxidante, pues ésta es cinco veces mayor que la de las vitaminas C y E, además de poseer una hidrosolubilidad similar a esta última. Por eso la rutina (quercetina-3-b-D-rutinósido) es, hasta el

momento, el único flavonoide en presentación farmacológica (combinada) en nuestro país (Escamilla y Col., 2009).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los Laboratorios del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Definición de la población y muestra

3.2.1. Población.- Hojas de la especie *Baccharis tricuneata* "yana taya", procedentes de la localidad de Quinua, del departamento de Ayacucho, colectadas en buen estado de conservación.

3.2.2. Muestra.- La muestra estuvo constituida por 500 g de hojas secas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección e identificación de muestra

Las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya" fueron recolectadas en las alturas del distrito de Quinua, departamento de Ayacucho, a 3 500 m.s.n.m. Se muestrearon aleatoriamente en horas de la mañana (8:00 a.m.) recolectándose la planta en buen estado de conservación, durante el mes de octubre. Fueron limpiadas, secadas y guardadas en bolsas de tela de color oscuro (Rojas, 2009).

La muestra recolectada fue trasladada a los Laboratorios del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, y fueron desecados a temperatura ambiente y luego se procedió con pulverizarlas utilizando un molino de cuchillas, para obtener un polvo seco que fueron almacenándose en frascos ámbar para su posterior maceración con etanol al 80 %.

En la identificación botánica se emplearon las hojas, flores y raíz de la muestra, la cual estuvo a cargo de los especialistas del Herbario Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.3.2. Preparación de extractos

Se realizó la maceración de 500 g de las hojas secas molidas, realizando una extracción hidroalcohólica con tres litros de etanol al 80 % con doble extracción (se maceró en frascos de color ámbar por siete días, durante los cuales se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente); posteriormente se filtró y se reunieron los filtrados, obteniéndose un solución hidroalcohólica total, posteriormente se llevó a evaporación con la ayuda del rotavapor BUCHI 3000 (extracto etanólico). Fue desengrasado con éter de petróleo con la finalidad de eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos, a este extracto se llevó a sequedad (extracto etéreo), luego se procedió a extraer con cloroformo recogiendo la fase clorofórmica y llevándola también a sequedad (extracto clorofórmico) y finalmente se realizó una extracción con acetato de etilo, la cual se evaporó a sequedad (extracto acetato de etilo) (Aguilar, 2010).

3.3.3. Tamizaje fitoquímico

La caracterización fitoquímica se basó en el agrupamiento de metabolitos estructuralmente semejantes, para identificarlos por su comportamiento químico frente a reacciones estandarizadas. Se realizaron las pruebas de coloración al

extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya" que se fundamentan en los cambios estructurales ocasionados en los metabolitos presentes, como aparición o desaparición de una coloración, formación o dilución de un precipitado o desprendimiento de gas (Lock de Ugaz, 1994; Miranda y Col., 2000).

3.4. Prueba cromatográfica

Preparación de las soluciones estándar:

Las soluciones estándar que se usaron fueron: quercetina, rutina, ácido clorogénico, ácido caféico de 0,2 mg/mL.

Preparación de la solución muestra:

Los extractos secos de cada una de las fracciones se disolvieron en metanol.

Sistema Cromatográfico:

Fase estacionaria: Placa de cromatografía silicagel G254.

Fase móvil: Butanol: Ácido acético: Agua (4:1:5) (Lock de Ugaz, 1994)

Volumen de inyección: 20 µL.

Revelador: Luz ultravioleta, vapores de amoníaco.

3.5. Prueba espectral

Preparación de las soluciones estándar:

Las soluciones estándar que fueron usadas: quercetina, ácido clorogénico, ácido caféico, ácido ferúlico en metanol a concentración de 0,2 mg/mL.

Preparación de la solución muestra:

Los extractos secos de cada una de las fracciones se disolvieron en metanol en fiola de 50 mL.

Sistema espectrofotométrico:

Celda: Cuarzo de 1 cm.

Longitud de onda: 200 nm a 500 nm.

Blanco: Metanol.

Se registraron los espectros e identificaron los máximos picos de absorción por comparación con los espectros de los estándares.

3.6. Determinación de la actividad antioxidante

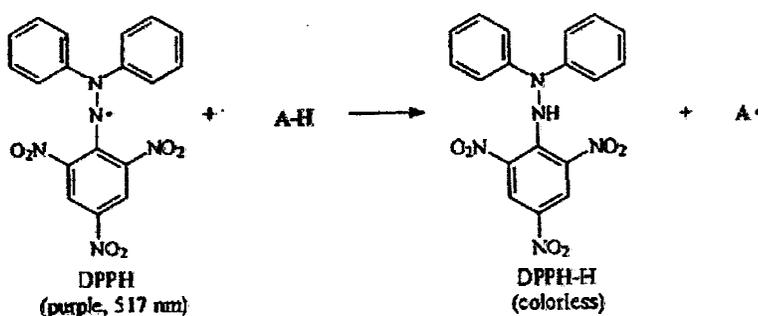
3.6.1. Actividad secuestradora del radical 1,1, - difenil-2-picrilhidrazilo.

Para determinar la capacidad antioxidante es aquel que emplea al radical DPPH (1,1-difenil-2-picril hidrazilo hidratado), el cual por su estabilidad, destruido solamente por antioxidante, de tal manera que el mejor compuesto destructor del DPPH será el mejor antioxidante.

Fundamento:

La técnica empleara el DPPH que tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, se basa en la desaparición de dicho color hacia el amarillo pálido por la reacción de la sustancia antioxidante, pudiendo cuantificarse la reacción espectrofotométricamente a 517 nm por diferencia de absorbancias, con lo que se determina el porcentaje de inhibición del radical DPPH (Castañeda y Col., 2008).

La reducción del DPPH sigue la siguiente reacción:



Procedimiento

Para el ensayo se utilizaron lo siguiente:

- Una solución metanólica de DPPH de 20 mg/L.
- Una solución metanólica de la fracción de acetato de etilo de 300 µg/L (Solución A)
- Un blanco con metanol: agua (2: 1) para ajustar el espectrofotómetro a cero.
- Un blanco de muestra con 0,75 mL de muestra (Solución A) y 1,5 mL de metanol.
- Un patrón de referencia (estándar) con 1,5 mL de DPPH y 0,75 mL de agua destilada.
- La muestra con 0,75 mL de solución A y 1,5 mL de DPPH obteniéndose una concentración final de 100 ug/mL, dejar a temperatura ambiente por cinco minutos y leer a 517 nm en el espectrofotómetro.
- Diluir la solución A (2) con metanol en una proporción de 1: 2 (solución B) para obtener una concentración final de 50 ug/mL y luego en una proporción de 1: 10 (solución C) para obtener una concentración final de 10 ug/mL.
- Con las soluciones B y C se procede igual que en el caso anterior.

Cálculos:

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

Dónde:

A_1 : Absorbancia del patrón de referencia

A_2 : Absorbancia de la muestra

A_3 : Absorbancia del blanco de la muestra

3.7. Análisis de datos

Los datos fueron organizados en cuadros y una matriz para calcular la media y la desviación estándar. La significancia estadística fue determinado mediante el análisis de varianza múltiple

IV. RESULTADOS

CUADRO N° 01. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya". Ayacucho– 2012.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde negro
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	++	Coloración amarillo pardo.
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración rojo intenso
Aminoácidos (aminas)	Ninhidrina	++	Coloración violeta
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	+++	Coloración rojo
Glicosidos cardiotónicos	Kedde	+++	Coloración púrpura
Alcaloides	Hager	+	Precipitado blanco
	Dragendorf	+	Precipitado naranja

LEYENDA:

(-) : Ausente

(+) : Poco

(++) : Moderado

(+++): Abundante

CUADRO N° 02. Metabolitos secundarios presentes en los diferentes extractos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya". Ayacucho –2012.

Extracto	Ensayo	Resultados	Metabolitos secundarios	Observaciones
Hidroalcohólico	Shinoda	+++	Flavonoides	Coloración rojo
	Cloruro férrico	+++	Compuestos fenólicos	Coloración verde negro
Etéreo	Cloruro férrico	+	Compuestos fenólicos	Coloración verde amarilla
Clorofórmico	Shinoda	+	Flavonoides	Coloración rojo
	Cloruro férrico	+++	Compuestos fenólicos	Coloración verde negro
Acetato de etilo	Shinoda	+++	Flavonoides	Coloración rojo
	Cloruro férrico	+++	Compuestos fenólicos	Coloración verde negro
Acuoso	Shinoda	++	Flavonoides	Coloración rojo
	Cloruro férrico	+++	Compuestos fenólicos	Coloración verde negro

LEYENDA:

(-) : Ausente

(+) : Poco

(++) : Moderado

(+++) : Abundante

CUADRO N° 03: Características cromatográficas de los diferentes extractos obtenidos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya". Ayacucho–2012.

Extractos	Visualización Visible	Fluorescencia al ultravioleta	
		Sin NH ₃	Con NH ₃
Etanólico	Amarillo	Celeste	Se intensifica la coloración.
Etéreo	Amarillo	Celeste	Se intensifica la coloración.
Clorofórmico	Amarillo	Celeste	Se intensifica la coloración.
Acetato de etilo	Amarillo	Celeste, azul y marrones	Se intensifica la coloración.
Acuoso	Amarillo	Celeste y marrones	Se intensifica la coloración.
Quercetina	Amarillo	Azul	Se intensifica la coloración.
Rutina	Amarillo	Purpura	Se intensifica la coloración.
Ácido clorogénico	Amarillo	Celeste	Se intensifica la coloración.
Ácido caféico	Amarillo	Celeste	Se intensifica la coloración.

CUADRO N° 04: Características espectrales en el espectro ultravioleta, de los diferentes extractos obtenidos las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya", en comparación con estándares como ácido caféico, ácido ferúlico y ácido clorogénico. Ayacucho–2012.

Extractos	Longitud de onda de máxima absorbancia (nm)	
	Banda II	Banda I
Etanólico	293	324
Éter de petróleo	292	-
Clorofórmico	292	-
Acetato de etilo	295	325
Acuoso	-	325
Quercetina	255	370
Ácido clorogénico	245	330
Ácido caféico	235	325
Ácido ferúlico	235	320

CUADRO N° 05: Porcentaje de captación del radical libre DPPH por efecto de los diferentes extractos obtenidos a partir de las hojas de *Baccharis trichneata* "yana taya" a diferentes concentraciones. Ayacucho- 2012.

Repeticiones	% de captación de DPPH											
	Etanólico			Etéreo			Cloroformico			Acetato de etilo		
	100 µg/mL	50 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	10 µg/mL
1	98,8	94,1	86,8	90,6	59,5	41,3	99,3	96,9	86,8	98,1	96,2	95,7
2	100,5	93,9	84,0	96,5	65,8	41,8	95,1	94,8	75,9	99,3	98,8	95,7
3	100,9	96,2	84,4	97,4	65,5	49,3	99,3	96,9	46,9	98,4	99,0	95,5
Promedio	100,1	94,7	85,1	94,8	63,6	44,1	97,9	96,2	69,9	98,6	98,0	95,6

Repeticiones	% de captación de DPPH											
	Acuoso			Quercetina			Vitamina C					
	100 µg/mL	50 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	10 µg/mL
1	97,2	95,7	70,8	98,3	96,0	96,9	97,6	98,8	98,4	97,6	98,8	98,4
2	96,5	96,7	71,0	97,7	97,4	97,2	98,1	95,8	98,3	98,1	95,8	98,3
3	96,5	95,8	70,7	97,7	97,7	95,5	98,4	97,9	96,5	98,4	97,9	96,5
Promedio	96,7	96,1	70,8	97,9	97,0	96,5	98,0	97,5	97,7	98,0	97,5	97,7

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se propuso demostrar que los extractos obtenidos de hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya" presentan actividad antioxidante, los cuales son los responsables de las actividades farmacológicas ya descritas.

El tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico desarrollado según la técnica de Lock de Ugaz (1994) y Miranda y Cuellar (2000), reporta la presencia de los metabolitos secundarios como: flavonoides, taninos y/o fenoles, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos, lactonas y/o cumarinas, glicósidos cardiotónicos y alcaloides (Cuadro N° 01); estos hallazgos concuerdan para el mayor número de metabolitos secundarios presentes en *Baccharis tricuneata* reportados por Rojas (2010), además el género *Baccharis* presenta en su composición flavonoides y otros compuestos fenólicos, diterpenoides y componentes volátiles (Abad y Bermejo, 2007).

Para la extracción de los diversos metabolitos se utilizó solventes con diferentes finalidades, el éter de petróleo con la finalidad de eliminar las grasas y clorofila, la segunda extracción con cloroformo tiene como fin eliminar los terpenos y sesquiterpenos, la tercera extracción con acetato de etilo tiene la finalidad de extraer

compuestos fenólicos, y finalmente nos queda como residuo la fase acuosa que también fue estudiado para evaluar la actividad antioxidante (Aguilar, 2010).

La literatura refiere que los flavonoides, en general, poseen capacidad para neutralizar radicales libres, responsables, cuando están dotados de un alto grado de reactividad (Bruneton, 2001). La presencia de flavonoides ha sido verificada con la reacción de Shinoda al dar un compuesto de color rojo, lo que es un indicador positivo para flavonoides para los extractos etanólico, clorofórmico, acetato de etilo y acuoso (Cuadro N° 02 y Anexo N° 03), también se demuestra la presencia de fenoles por la reacción con cloruro férrico al 1% que da una coloración verde negro característico (Lock de Ugaz, 1994). Los flavonoides y fenoles fueron detectados en la fracción de acetato de etilo, mediante cromatografía en capa fina, y observados a la luz UV 366 nm. Las manchas caracterizadas fueron encontradas en la fracción acetato de etilo como se puede observar en el Anexo N° 04, las manchas de color celeste en los diferentes extractos y en el extracto acetato de etilo manchas de color celeste, azul y marrón, lo cual según Lock de Ugaz (2004) la detección de los flavonoides por cromatografía de capa delgada desarrollan en el UV manchas fluorescentes azules, rosadas, naranjas, púrpuras y otros que se intensifican o cambian de color luego de su exposición a vapores de amoníaco, lo cual se pudo apreciar en la parte experimental (Cuadro N° 03).

Las flavonas y flavonoles muestran dos bandas definidas: La banda I, de mayor longitud de onda en el rango 300-390 nm asociada con la funcionalidad cinamoílo, y la banda II, entre 250-280 nm debida al anillo aromático A (funcionalidad benzoílo), aunque a veces se observan otras bandas de absorción. La posición de la banda I depende del tipo de flavonoide: las flavonas se muestran en 310-350 nm, los flavonoles 3-O-sustituidos en 330-360 nm, y los flavonoles en 350-385 nm. (Mabry y

Col., 1970). Espectrofotométricamente observamos que cada extracto posee diferente longitud de onda y en comparación con los estándares utilizados podemos apreciar en el Cuadro N° 04, según la clasificación de Mabry y Col. (1970), la fracción acetato de etilo que presenta una longitud de onda de 325 nm pertenecería a una flavona; Lock de Ugáz (1994), compara también los espectros de los flavonoides en las que presentan dos máximos de absorción y los clasifica según rangos de banda I y II para cada tipo de flavonoides; para lo cual si la banda II se encuentra entre 275 -295 y la banda I se encuentra entre 300 – 330 el tipo de flavonoide al que pertenece es a una isoflavanona o dihidroflavonoles, a la cual pertenece el extracto de acetato de etilo de las hojas de *Baccharis tricuneata*.

La actividad antioxidante se evaluó utilizando el método de captación del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazo (DPPH), donde se observó que los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en el extracto acetato de etilo, mostraron actividad antioxidante dependiente de la concentración (Cuadro N° 05), pero no mostraron diferencias cuando se compara con la quercetina y la vitamina C, tal como se muestra en sus respectivas pruebas estadísticas (Anexo N° 06), donde existe significancia en las concentraciones ensayadas, pero no con las sustancias de comparación, es decir tiene una actividad antioxidante comparativamente similar a la quercetina y la vitamina C. De la actividad antioxidante de los flavonoides se sabe que las flavonas y flavonoles se muestran activos contra los radicales libres (Bruneton, 2001). Además Gonzaga y Col. (2005), menciona a la flavanona identificada como 5,4'-OH-7-OMe-Flavanona (sakuranetina) como uno de los flavonoides presentes dentro de la *Baccharis tricuneata* y Abad y Bermejo (2007), le atribuyen al género *Baccharis* en su fito-composición flavonoides y otros

compuestos fenólicos, diterpenoides y componentes volátiles. Lo cual explica la alta actividad antioxidante de los flavonoides semejante a los estándares utilizados.

Amić y Col. (2003), reportan un estudio de 29 flavonoides para determinar la relación estructura actividad secuestradora sobre el radical libre DPPH. En todos los casos señalan que los flavonoides son antioxidantes, por su capacidad de donar un átomo de hidrógeno a los radicales libres. Del mismo que Jung y Col. (2003), refieren que la capacidad secuestradora de radicales libres depende de su estructura molecular y la disposición de los grupos hidróxilos, de la disponibilidad de los hidrógenos fenólicos y la posibilidad de estabilización del radical fenóxilo resultante vía enlaces o por deslocalización electrónica, de este modo según la bibliografía reporta a la flavonona sakurentina dentro de su composición la cual presenta grupos hidroxilos capaces de donar electrones es así que en el extracto hidroalcohólico, la fracción clorofórmica, la fracción acetato de etilo y la fracción acuosa tuvieron una actividad antioxidante superior al 50 %; y la fracción de acetato de etilo fue la que mostró la mejor actividad antioxidante en las diferentes concentraciones 100 µg/mL, 50 µg/mL y 10 µg/mL (98,6 %; 98,0 %; 95,6 %), esto debido a que los diferentes solventes utilizados arrastraron diferentes metabolitos que presentan actividad antioxidante, los más polares como el agua o etanol para glicosidos o agliconas muy hidroxiladas, hasta menos polares como éter y cloroformo para flavonas altamente metoxiladas (Lock de Ugaz, 1994); es así que los solventes utilizados para su extracción son seleccionados de acuerdo con la polaridad de los flavonoides. Los glicósidos y las geninas más polares, tales como flavonas hidroxiladas, flavonoles, auronas y chalconas son generalmente aislados a partir del material vegetal por extracción con acetona, alcohol, agua o mezcla de éstos. Las geninas altamente metiladas (menos polares), son usualmente extraídas

con solventes tales como cloroformo, éter o acetato de etilo. Concluyéndose que las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya" tiene actividad antioxidante, siendo la fracción de acetato de etilo la que concentra los metabolitos secundarios con mejor actividad antioxidante.

VI. CONCLUSIONES

- Los diferentes extractos obtenidos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya" presentan actividad antioxidante.
- Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya", son: flavonoides, fenoles y/o taninos, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos, lactonas y/o cumarinas, glicósidos cardiotónicos y alcaloides. Los flavonoides y compuestos fenólicos fueron evidenciados mediante ensayos de cromatografía y espectrofotometría ultravioleta.
- El extracto acetato de etilo presenta mejor actividad antioxidantes en sus tres concentraciones de 100 µg/mL, 50 µg/mL y 10 µg/mL (98,6 %; 98,0 %; 95,6 %); en comparación con los diferentes extractos obtenidos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".

VII. RECOMENDACIONES

- Evaluar la actividad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya", puesto que así es como se emplea tradicionalmente.
- Proseguir con los estudios de la actividad antioxidante *in vivo* e *in vitro* de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya", puesto que demostró tener buena actividad antioxidante.
- Aislar los flavonoides responsables de dicha actividad, por métodos más específicos como por Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).
- Realizar estudios de toxicidad de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Abad, M.; Bermejo, P.** 2007. *Baccharis* (Compositae): a review update. Dept. of Pharma, faculty of pharmacy, University Complutense. Rev ARKIVOC. Madrid – España.
2. **Aguilar, E.** 2010. Actividad antioxidante y antiinflamatoria de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix Epi*. “wayra muña”. Informe de investigación en desarrollo de potenciales económicas y bionegocios. Área de recursos biológicos y terapéuticos. Instituto de Investigación de Ciencias Biológicas. UNSCH. Ayacucho.
3. **Aguilar, E.; Alarcón, J.; Anaya, B.; Tinco, A.** 2006. Etnobotánica, fitoquímica y farmacología de especies del género *Baccharis* (Asteraceas) utilizadas como plantas medicinales en el departamento de Ayacucho.
4. **Amić, D.; Davidović-Amić, D.; Bešlo, D.; Trinajstić, N.** 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta* Vol. 76(1). Croacia.
5. **Aronés, M.** 1999. Estudio fitoquímico de *Baccharis salicifolia* y determinación de su actividad antiinflamatoria. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico– UNSCH. Ayacucho-Perú.
6. **Bafna, A.; Mishra, S.** 2005. Actividad antioxidante *in vitro* del extracto de metanol de los rizomas de *Curculigo orchioides Gaertn.* *Ars Pharm;* Vol. 46 (2). India.
7. **Bruneton, J.** 2001. *Plantas Medicinales. Fitoquímica y Farmacognosia.* Editorial Acribia. Zaragoza.
8. **Cadena, E.** 1997. Basic mechanism of antioxidants activity. *Bio factor.* Vol. 6. California – USA.
9. **Castañeda, C.; Ramos, E.; Ibañez, V.** 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico.* Vol.8. Perú.
10. **Castillo, F.; Castillo, S.; Reyes, C.** 2010. Estudio fitoquímico de *Plukenetia volubilis L.* y su efecto antioxidante en la lipoperoxidación inducida por Fe^{3+} /ascorbato en hígado de *Rattus rattus var. Albinus.* UCV - Scientia Vol. 2. Perú.

11. **Castro, Y.** 2002. Evaluación de la actividad citoprotectora gástrica de *Baccharis genistelloide* "kimsa cuchus". Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico – UNSCH. Ayacucho-Perú.
12. **Cuatrecasas, J.** 2001. Notas adicionales, taxonómicas y corológicas sobre *Baccharis*. Department of Botany, Smithsonian Institution, Washington, D.C USA.
13. **Díaz, M.; Conde, J.; Félix, P.; Ramírez, S.; Vicuña, R.** 2007. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de una crema a partir del extracto purificado de *Baccharis tricuneata* (L.F.) Pers. "taya". Asociación Científica de Investigación Farmacéutica - Facultad de Farmacia y Bioquímica- Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica. Perú.
14. **Escamilla, C.; Cuevas, E.; Guevara, J.** 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Rev. Fac. Med. UNAM Vol. 52(2). México.
15. **García, V.** 2007. Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos etanólicos totales de cinco especies del género *Baccharis*. Tesis previa a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología. Quito - Ecuador.
16. **Gonzaga, L.; Costa, I.; Geraldo, M.** 2005. Género *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos Químicos, Económicos y Biológicos. Quim. Nova. Vol. 28. Brasil.
17. **Gonzales, E. Villca, T.; Loza, R.** 2007. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de ocho especies del género *Baccharis*: *B. articulata*, *B. dracunculifolia*, *B. salicifolia*, *B. ulcina*, *B. latifolia*, *B. pentlandii*, *B. obtusifolia*, *B. subalata*. Área de Farmacología del Instituto de Investigaciones Farmaco-bioquímicas, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés. 24(1). La Paz– Bolivia.
18. **Halliwell, B.** 1995. Antioxidants characterization-methodology and mechanism. Biochem Pharmacol. Londres.
19. **Halliwell, B.; Gutteridge, J.** 1999. Free Radicals in Biology and Medicine, Clarendon Press, Oxford. Londres.
20. **Hoyos, K.** 2008. Diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca), con efecto antiinflamatorio. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico– UNMSM. Perú.

21. Jung, H.; Jung, M.; Kim, J.; Chung, H.; Choi, J. 2003. Inhibitory Activity of Flavonoids from *Prunus davidiana* and Other Flavonoids on Total ROS and Hydroxyl Radical Generation. Arch Pharm Res. 26(10). Korea.
22. Lock de Ugaz, O. 1994. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da edición. Fondo editorial. Lima – Perú.
23. Mabry, T.; Markham, K.; Thomas, M. 1970. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag. New York.
24. Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. Am J Clin NUtri. USA.
25. Miranda, M.; Cuellar, A. 2000. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales. Universidad de la Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos. Habana – Cuba.
26. Muñoz, A.; Ramos, E.; Alvarado, F. 2007. Evaluación de la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. Centro de investigación y Bioquímica y Nutrición. Facultad de Medicina Humana. Lima. USMP. Perú.
27. Paca, F.; Paca, R.; Palao, A.; Canaza, D.; Bustinsa H. 2003. Proyecto de la Biodiversidad en la Cuenca del Lago Titicaca Desaguadero-Poopo-Salar de Coipasa (Tdps). IIP Qollasuyo – Subcontrato 21.07. Perú.
28. Rojas, F. 2009. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Baccharis tricuneata* "yana taya". Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutica-UNSCH. Ayacucho-Perú.
29. Ugartondo, V. 2009. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente al estrés oxidativo en modelos celulares. Universidad de Barcelona, Facultad de Farmacia. España.
30. Vaya, J.; Aviram, M. 2001. Nutritional antioxidants: Mechanisms of action, analyses of activities and medical applications. Curr. Med. Chem. Israel.
31. Villar del Fresno, A. 1999. Farmacognosia General. Proyecto Editorial-Síntesis Farmacia. Editorial Síntesis S.A. Madrid.

ANEXOS

ANEXO N°01

Certificado de clasificación taxonómica de *Baccharis tricuneata* "yana taya".



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

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Tania Margoth, HUARANCCA QUISPE, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Baccharis
ESPECIE	:	<i>Baccharis tricuneata</i> (L.F.) Pers.
N.V.	:	"yana taya"

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

Ayacucho, 21 de Setiembre del 2012

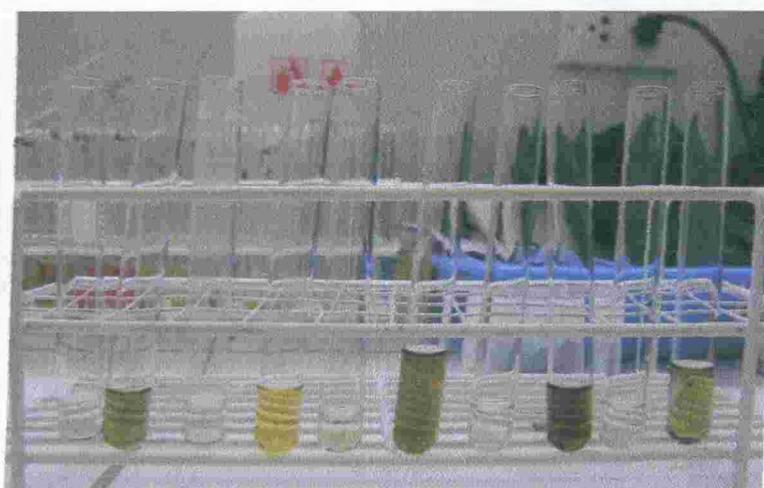
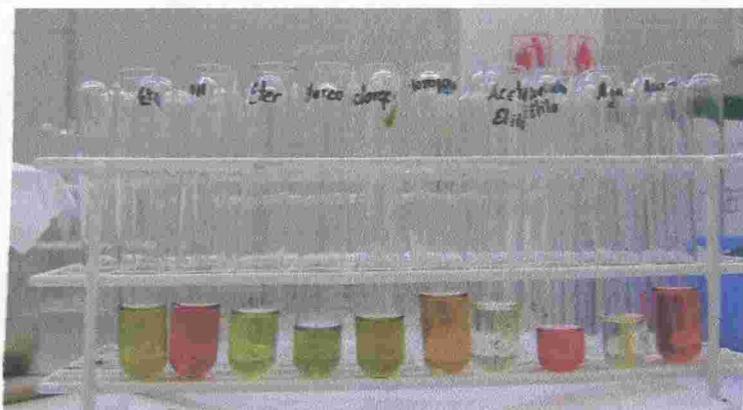
ANEXON°02

Obtención de los diferentes extractos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".



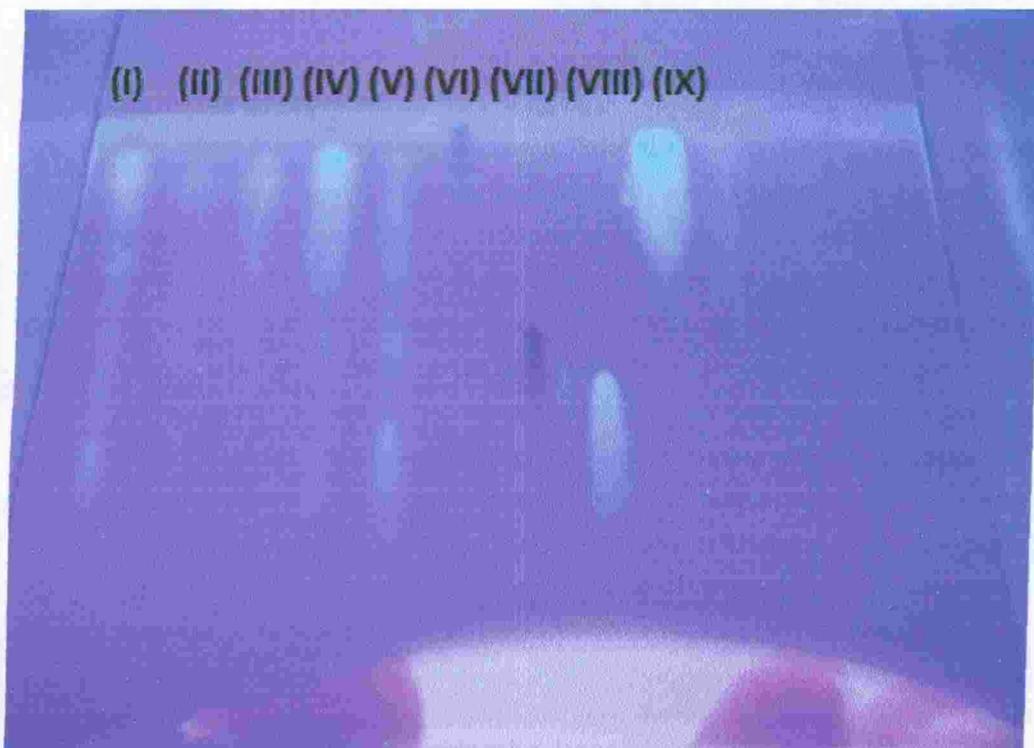
ANEXO N° 03

Reacción de Shinoda y de cloruro férrico para la identificación de metabolitos secundarios en los diferentes extractos obtenidos a partir de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".



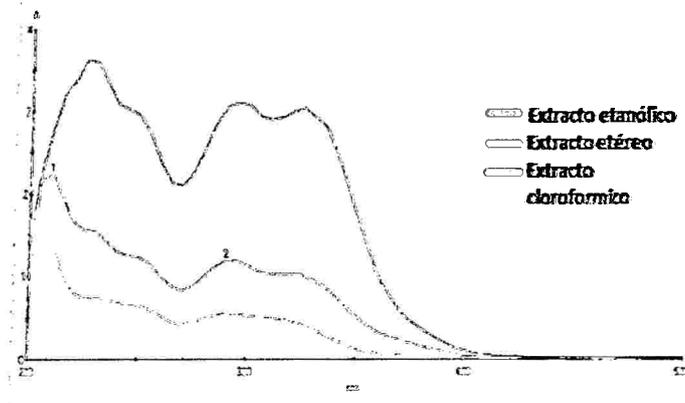
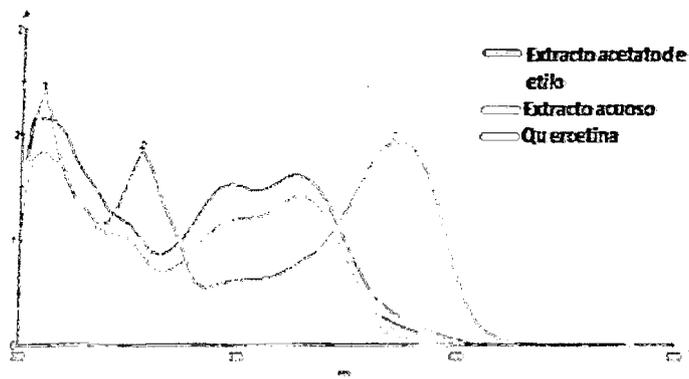
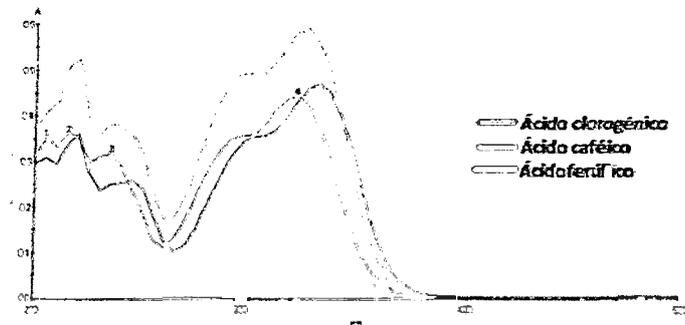
ANEXO N° 04

Cromatografía en capa fina del extracto etanólico (I), extracto etéreo (II), extracto clorofórmico (III), extracto acetato de etilo (IV), extracto acuoso (V), quercetina (VI), rutina (VII), ácido clorogénico (VIII), ácido caféico (IX), visto a la luz ultravioleta.



ANEXO N°05

Espectros ultravioletas de los estándares: ácido caféico, ácido ferúlico, ácido clorogénico, quercetina y de los diferentes extractos obtenidos de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".



ANEXON°06

Análisis de varianza del porcentaje de la actividad secuestradora del DPPH por parte de los metabolitos secundarios presentes en los diferentes extractos obtenidos a partir de las hojas de *Baccharis tricuneata* "yana taya".

ANOVA^{a,b}

			Método único				
			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Captación del DPPH (%)	Covariables	Extractos	1693,188	1	1693,188	10,925	,002
	Efectos principales	Concentración	3441,544	2	1720,772	11,103	,000
	Modelo		5134,732	3	1711,577	11,043	,000
	Residual		9144,342	59	154,989		
	Total		14279,074	62	230,308		

a. Captación del DPPH (%) por concentración con extractos.

b. Todos los efectos introducidos simultáneamente.

ANEXO N° VI
Matriz de consistencia.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Actividad antioxidante de las hojas de <i>Baccharis tricuneata</i> "yana taya". Ayacucho— 2012.	¿Tendrá actividad antioxidante los diferentes extractos obtenidos de las hojas de <i>Baccharis tricuneata</i> "yana taya"? Objetivos Específicos • Realizar pruebas para identificar los metabolitos secundarios presentes en el los diferentes extractos de las hojas de <i>Baccharis tricuneata</i> "yana taya". • Comparar la actividad antioxidante de los diferentes extractos obtenidos de las hojas de <i>Baccharis tricuneata</i> "yana taya".	<p>Las evidencias experimentales sugieren que los radicales libres (RL) y las especies reactivas de oxígeno (ERO) pueden estar relacionadas con un gran número de enfermedades. Como las plantas producen gran cantidad de fracciones químicas que actúan como antioxidantes para controlar el estrés oxidativo causado por la radiación solar y el oxígeno, pueden servir de fuente para la obtención de nuevos compuestos antioxidantes.</p> <p>Estudios recientes demuestran que ciertos productos de las plantas incluyen sustancias fenólicas, como flavonoides y taninos. Estas sustancias antioxidantes naturales tienen normalmente una fracción fenólica en su estructura molecular (Bafna y Mishra, 2005).</p> <p>En el género <i>Baccharis tricuneata</i> se ha identificado metabolitos secundarios como alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, compuestos triterpénicos y/o esteroides, azúcares reductores, lactonas, cumarinas, glicosidos cardiotónicos, aminoácidos y grupos amina (Rojas, 2009)</p> <p>En el trabajo de investigación de Gonzaga y Col. (2005), menciona a la flavanona identificada como 5,4'-OH-7-OMe-flavanona (sakuranetina) como uno de los flavonoides presentes dentro de la <i>Baccharis tricuneata</i></p>	Los diferentes extractos obtenidos de las hojas de <i>Baccharis tricuneata</i> "yana taya" tienen actividad antioxidante.	<p>Variable Independiente Diferentes extractos obtenidos de las hojas de <i>Baccharis tricuneata</i> "yana taya".</p> <p>Indicadores: Extracto de: 100 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL de los diferentes extractos.</p> <p>Variable dependiente Actividad antioxidante</p> <p>Indicador Actividad antioxidante: Porcentaje (%) de captación del radical libre DPPH.</p>	<p>Tipo: Básico - Descriptivo</p> <p>Población: <i>Baccharis tricuneata</i> "yana taya" que crece en el distrito de Quinua, departamento de Ayacucho.</p> <p>Muestra: 500 g de hojas secas.</p> <p>Unidad Experimental: Se realizara una extracción hidroalcohólica y posteriormente una extracción éterea, extracción cloroformica, extracción acetato de etilo, y quedara la fracción acuosa en las cuales se comparará su actividad antioxidante mediante el método propuesto por Castañeda y Col., (2008).</p>	

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
R.D. N°050 – 13 – UNSCH – FCB – D
Bachiller: Tania Margoth HUARANCCA QUISPE

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro con diez minutos de la tarde del día viernes diez de mayo del dos mil trece, en el auditorio del Departamento de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presidencia del Mg. Enrique Aguilar Felices (Presidente – Miembro), se reunieron los miembros jurados: Dr. Edwin Enciso Roca, Mg. Marta Romero Viacava, Mg. Raúl Antonio Mamani Aycachi para recepcionar la sustentación de la tesis titulada “Actividad antioxidante de las hojas de *Baccharis tricuneta* “yana taya”. Ayacucho – 2012”, presentada por la Bachiller: Tania Margoth Huarancca Quispe, con la que pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutica.

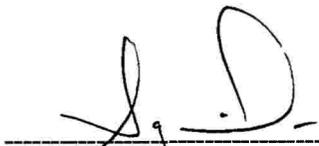
Se da inicio el acto de sustentación, el presidente de la comisión evaluadora dio las pautas básicas a la sustentante, para que pueda exponer su trabajo de investigación en un tiempo no mayor de cuarenta y cinco minutos.

Culminando la exposición del trabajo, se dio a la segunda etapa del acto académico, en la que el presidente invitó a los docentes miembros jurados a iniciar con sus observaciones, aclaraciones y/o preguntas a fin de ser respondida por la sustentante. Finalizada esta etapa el presidente de la comisión invitó a la sustentante y al público asistente a retirarse momentáneamente del auditorio a fin de que los miembros del jurado puedan deliberar en privado la calificación, obteniéndose las siguientes calificaciones:

Miembro jurado	Exposición	Rpta. Preguntas	Promedio
Dr. Edwin Enciso Roca	18	18	18
Mg. Marta Romero Viacava	17	17	17
Mg. Raúl A. Mamani Aycachi	17	16	17
Mg. Enrique Aguilar Felices	17	17	17
		Promedio	17

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador la sustentante obtuvo la calificación promedio final de Diecisiete (17) de lo cual dan fe los miembros del jurado calificador estampando sus firmas al pie del presente.

Concluyendo el acto de sustentación de tesis siendo las seis y diez de la noche.


Mg. Enrique Aguilar Felices.
Presidente – Miembro.


Dr. Edwin Enciso Roca.
Miembro – Asesor.


Mg. Raúl Mamani Aycachi.
Miembro.


Mg. Marta Romero Viacava.
Miembro – Secretaria.