



Universidad Nacional

SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana phil* "chiri chiri"

Presentado por:

MUCHAYPIÑA ROJAS, LUIS DEL PIERO

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **4%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 16 de Julio de 2024

.....
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de
Grindelia tarapacana phil "chiri chiri"

Línea de Investigación:
Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

AUTOR

BACH. MUCHAYPIÑA ROJAS LUIS DEL PIERO

Ica, Perú

2024

DEDICATORIA

Con infinita gratitud dedico este trabajo a Dios quien a sido mi apoyo constante, mi guía inquebrantable y mi fuente inagotable de sabiduría en cada paso de este camino.

Papá y mamá, quiero expresarles mi más profundo agradecimiento por haberme brindado la oportunidad de tener una educación, valoro mucho su esfuerzo para que yo pueda lograr mis metas y objetivos.

Gracias por siempre motivarme, apoyarme y alentarme a seguir adelante. Su confianza ha sido fundamental para mi éxito académico y personal.

AGRADECIMIENTO

Con respeto y aprecio, expreso mi más profundo agradecimiento a mi director de tesis, Profesor Jorge Antonio García Ceccarelli, por su dedicación y valiosa orientación, que fueron el pilar fundamental para el avance y culminación de esta investigación. Expreso mi agradecimiento a la Universidad San Luis Gonzaga, bastión de excelencia académica que promueve el desarrollo de un espíritu crítico esencial para las investigaciones realizadas.

Expreso mi más profundo agradecimiento a cada uno de ellos por sus valiosas contribuciones.

Índice

Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
I. Introducción	9
II. Estrategia metodológica	25
2.1.1 Tipo de Investigación	25
2.1.2 Nivel de Investigación	25
2.1.3. Diseño de Investigación	25
2.2 Lugar de Investigación	25
2.3 Materiales de Trabajo	25
2.4. Hipótesis y variables	28
2.4.1. Hipótesis	28
2.4.2. Variables	29
2.5. Población, muestra y muestreo	29
2.6. Métodos, Técnicas y procedimiento de recolección de muestras	29
2.7. Técnicas y procesamiento de información	37
2.8. Técnicas de procesamiento, análisis e interpretación	38
2.9. Aspectos éticos	38
III. Resultados	39
IV. Discusión	47
V. Conclusiones	50
VI. Recomendaciones	51
VII. Referencias bibliográficas	52
VIII. Anexos	54

Índice de tablas

Tabla 1. Tipo de antioxidantes	17
Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de caracterización el extracto etanólico de las partes aéreas de la especie <i>Grindelia tarapacana Phil</i> “chiri-chiri”.	39
Tabla 3. Metabolitos secundarios del extracto etanólico de las partes aéreas de la especie <i>Grindelia tarapacana Phil</i> “chiri - chiri”.	40
Tabla 4. Lectura de absorbancia de patrón de trolox por el método de DPPH	41
Tabla 5. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de la especie <i>Grindelia tarapacana Phil Chiri-chiri</i> por el método DPPH	42
Tabla 6. Valores de absorbancia de las diluciones patrones de trolox por el método FRAP	43
Tabla 7. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de la especie <i>Grindelia tarapacana Phil</i> “chiri - chiri”. por el método FRAP	44
Tabla 8. Lectura de absorbancia de las disoluciones de trolox por el método de ABTS.	45
Tabla 9. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de la especie <i>Grindelia tarapacana Phil</i> “chiri-chiri” por el método ABTS.	46

Índice de figuras

Figura 1. Planta de <i>Grindelia tarapacana</i> Phil “chiri-chiri” al estado natural	14
Figura 2. Hojas y unidades floridas de <i>Grindelia tarapacana</i> Phil “chiri-chiri”.	15
Figura 3. . Ubicación de la zona de distribución de la especie donde se muestreo	16
Figura 4. Antioxidantes presentes en alimento	17
Figura 5. Principales mecanismos de acción de antioxidantes	19
Figura 6. Radicales libres	20
Figura 7. Fuentes de formación de radicales libres.	21
Figura 8. Zona de recolección de la especie vegetal	30
Figura 9. Correlación entre las concentraciones de trolox en mM y % de inhibición del radical DPPH	41
Figura 10. Correlación entre las concentraciones del extracto en mg/mL y % de inhibición del radical DPPH	42
Figura 11. Curva de calibración del patrón para la establecer la actividad antioxidante por el método FRAP	43
Figura 12. Curva entre concentración del extracto etanólico de la especie <i>Grindelia tarapacana Chiri-chiri</i> y TEAC (mM)	44
Figura 13. Curva de cuantificación de trolox para la actividad antioxidante por el método ABTS	45
Figura 14. Curva entre concentración de extracto etanólico de la especie <i>Grindelia tarapacana</i> y capacidad antioxidante equivalente a trolox como mM.	46
Figura 15. Muestra vegetal Chiri-Chiri	55
Figura 16. Selección de la muestra vegetal	56
Figura 17. Secado de la muestra vegetal	56
Figura 18. Fragmentación de la muestra vegetal.	57
Figura 19. Muestra vegetal lista para almacenamiento y posterior tratamiento.	57
Figura 20. Determinación de pH para caracterizar al extracto etanolico de la especie	58
Figura 21. Pesado para la determinación de humedad y colocando para cenizas	59
Figura 22. Pesado muestra y reactivos para la determinación de la actividad antioxidante	60
Figura 23. Disolviendo el extracto en el baño ultrasonido	60
Figura 24. Preparando diluciones de la muestra para actividad antioxidante	61
Figura 25. Reacción del reactivo FRAP para la determinación de actividad antioxidante	62
Figura 26. Realizando la lectura en el espectrofotómetro	63
Figura 27. Colocando las muestras de cenizas en la campana desecadora	64
Figura 28. Certificación botánica de la especie	65

RESUMEN

El crecimiento y desarrollo de especies vegetales en medios ambientes agrestes como son las zonas áridas o semiáridas, debe desarrollar en ellas alguno sistema de defensa que les permita la supervivencia, en la búsqueda de especie con actividad antioxidante que permitan obtener compuestos que neutralicen el estrés oxidativo estas especies son alternativa promisorio. La especie *Grindela tarapacan Phill* “chiri-chiri” es utilizada en la medicina tradicional con diversas aplicación y es propicia de crecer en estos climas; razón por la cual el presente trabajo tuvo como propósito de demostración de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de especie de una zona altoandina. La muestra fue recogida en la zona de Huaraz, en el departamento de Ancash. El extracto se obtuvo por maceración empleando como solvente etanol de 96°. El extracto seco fue caracterizado mediante la determinación de la humedad, solidos solubles, cenizas y pH según métodos AOAC, después de un tamizaje fotoquímico se realizó identificación de los grupos de metabolitos secundarios por reacciones de coloración y/o precipitación. La actividad antioxidante se determinó por los métodos DPPH, FRAP y ABTS. Como resultados se obtuvo la presencia compuesto de naturaleza Triterpenoides/esteroides, flavonoides y alcaloides principalmente; en cuanto a la actividad antioxidante se halló valores 15,96; 6,45 y 20,5 mg de extracto equivalentes a 1 mM de trolox por los métodos de DPPH, FRAP y ABTS respectivamente. Concluyendo que el extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindela tarapacana Phill* “chiri-chiri” presenta una compuestos bioactivos y una mayor actividad antioxidante por el método FRAP.

Palabras clave: *Grindela tarapacana*, actividad antioxidante, DPPH, FRAP, ABTS.

ABSTRACT

The growth and development of plant species in harsh environments such as arid or semi-arid areas must develop some defense system that allows them to survive, in the search for species with antioxidant activity that allow obtaining compounds that neutralize oxidative stress. These species are promising alternatives. The species *Grindela tarapacana* Phill “chiri-chiri” is used in traditional medicine with various applications and is suitable for growing in these climates; For this reason, the purpose of this work was to demonstrate the antioxidant activity of the ethanolic extract of the aerial parts of a species from a high Andean area. The sample was collected in the Huaraz area, in the department of Ancash. The extract was obtained by maceration using 96° ethanol as a solvent. The dry extract was characterized by determining humidity, soluble solids, ash and pH according to AOAC methods. After photochemical screening, identification of the groups of secondary metabolites was carried out by coloration and/or precipitation reactions. The antioxidant activity was determined by the DPPH, FRAP and ABTS methods. As results, the presence of compounds of Triterpenoid/steroid nature, mainly flavonoids and alkaloids, was obtained; Regarding antioxidant activity, values of 15.96 were found; 6.45 and 20.5 mg of extract equivalent to 1 mM of trolox by the DPPH, FRAP and ABTS methods respectively. Concluding that the ethanolic extract of the aerial parts of *Grindela tarapacana* Phill “chiri-chiri” presents bioactive compounds and greater antioxidant activity by the FRAP method.

Keywords: *Grindela tarapacana*, antioxidant activity, DPPH, FRAP, ABTS

I. INTRODUCCION

Muchas especies vegetales medicinales y alimenticias han sido usadas como una primera alternativa por los seres humanos para el tratamiento de diversas dolencias, convirtiéndose en los primeros remedios o recetas para los problemas de la salud (1). Siendo el Perú uno de los países más megadiversos en cuanto a la flora medicinal, la cual se viene usando desde tiempos ancestrales, se hace necesario conocer con bases científicas si las aplicaciones de muchas de estas especies vegetales tienen un fundamento real (2). La Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que aproximadamente del 70% al 80 % de la población en los países en vías de desarrollo no tienen acceso o no pueden adquirir medicamentos para las enfermedades que padecen, por lo que para tratar sus dolencias, males o enfermedades hacen uso de la medicina tradicional y especialmente de los recursos vegetales terapéuticos, esto ha traído como consecuencia que en estos momentos una gran variedad de estos recursos vegetales se usen para el tratamiento de diversas enfermedades; tan es así que, los sistemas de salud en muchos países han incorporado el área de medicina complementaria en donde se hace principalmente el uso de las plantas medicinales como una alternativa en algunas terapias (3). Hoy en día, va adquiriendo mayor interés de la ciencia, la extracción de principios o compuestos activos de plantas o especies vegetales, por lo que se observa un mayor aumento en la comercialización de productos o medicamentos u otras presentaciones a base de estos; lo cual está permitiendo que este campo de operación tome mayor relevancia en la investigación.

Las diferentes o en algunos casos difíciles y agreste condiciones climáticas y geográficas que exhibe nuestro país, nos permite que podamos describir una gran y variada flora, lo cual forma parte de la invaluable riqueza que convierte a nuestro país en uno de los países más megadiversos del planeta (3, 4), lo que conlleva a las diversas composiciones de los metabolitos en las diferentes especies vegetales. En la actualidad se vienen efectuando un sin número de exploraciones, las mismas que tienen como objetivo en muchos casos la indagación de nuevas fuentes de antioxidantes naturales, con la finalidad de ser usados en la industria de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos; ya que son prioridad estos recursos antioxidantes para el cuidado de la salud, con la finalidad de combatir el estrés oxidativo el cual nos conduce a una serie de enfermedades degenerativas, todo esto ocasionado por la presencia de radicales libres que se generan en nuestro organismo según lo manifestado por Yu-Jie Zhang et al, 2015 (5).

Los antioxidantes se definen como un grupo de sustancias que, en concentraciones mínimas en relación a la sustancia oxidable, evitan o retrasan formidablemente el proceso oxidativo de este. Casi todas las sustancias orgánicas o inorgánicas que se hallan en las células vivas del

cuerpo se pueden considerar a modo de sustrato oxidable, tales como lípidos, proteínas, hidratos de carbono y hasta las moléculas de ADN (6, 7).

Recientemente, el grado de los efectos que ocasionan los radicales libres y su correspondiente correlación con el envejecimiento celular están un constante aumento. Los radicales libres están reconocidos como compuestos químicos que constituyen en los vectores causales del estrés oxidativo, estado que está directamente asociado con el envejecimiento celular y algunos procesos fisiopatológicos que se presentan diversas enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, cataratas y determinados tipos de cáncer.

La labor de los antioxidantes radica en imposibilitar que otras sustancias que reaccionen con oxígeno, reaccionando o interactuando más rápido con los radicales libres producidos, que con otros compuestos o moléculas que existieran, en un microambiente específico; el antioxidante ofrenda de su propia entorno estructural para impedir cambios en moléculas del tipo: lípidos, ADN, proteínas, etc, que cumplen funciones vitales (6)

En base a todo lo expuesto, es la razón fundamental por la cual propusimos la realización de la presente investigación “Actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana Phil* “chiri chiri”.

1.1 Descripción de la realidad problemática.

En el Perú y en muchos países en vías de desarrollo un considerable porcentaje de su población no tiene los medios o recursos económicos para frecuentar, asistir o pagar por una consulta médica lo que hace evidente que será mucho más difícil o casi imposible adquirir medicamentos. Es así que se presenta el caso particular que un gran porcentaje de la población de nuestras serranías sigue utilizando las plantas medicinales como una fuente principal de ayuda o quizás su única alternativa para combatir distintas enfermedades; lamentablemente, la gran mayoría de las plantas o especies vegetales utilizadas por la población no cuentan con suficientes investigaciones o estudios como para poder confirmar o negar el uso terapéutico que se le atribuye según el comercio local, uso tradicional o ancestral, por lo que en la actualidad a través de diversos o variados estudios se busca averiguar si esas atribuciones son ciertas o no.

En múltiples ocasiones las personas consumen una determinada especie vegetal de forma frecuente, perenne o hasta de forma indiscriminada sin conocer si verdaderamente esta tiene la actividad o los principios activos que le podrían ayudar; si la cantidad o dosis en que la está consumiendo o ingiriendo es la adecuada, lo que muchas veces ocasiona que este consumo sea inútil, pero también ocasionalmente se pueden originar diferentes grados de

intoxicación e incluso la muerte (8). Esta situación es la que amerita y fundamenta que se realice el estudio de la *Grindelia tarapacana* “chiri-chiri”.

Formulación del Problema

Problema General

- ¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri”?

Problemas Específicos.

- ¿Qué grupos de componentes químicos presenta el extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri”?
- ¿Cuál de los métodos empleados para la determinación de la actividad antioxidante es el más sensible al extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri”?

1.2 Antecedentes de la Investigación

Habiendo procedido a realizar la búsqueda y revisión bibliográfica del género *Grindelia* se han encontrado estudios sobre este género los cuales nos pueden servir como referencia o punto de partida para el estudio que nos proponemos llevar a cabo:

- Albani et. al. (2022), en su estudio “Efecto antiparasitario de extractos de especie de Astaraceae sobre *Echinococcus granulosus* ss” que trata sobre la equinococosis quística que es una enfermedad zoonótica causada por el parásito *Echinococcus granulosus*, el cual tiene una distribución mundial y que causa infecciones de larga duración en animales y humanos. El objetivo del presente estudio fue evaluar *in vitro* la eficacia de extractos de cuatro especies de Astaraceae, entre ellas *Grindelia pulchella* y *G. chiloensis* a 100 μ g/mL causaron una disminución en la viabilidad de los protoscolecis (9).
- Murguis et. al. (2021), en su trabajo “Remedios naturales para la tos aguda posviral en niños”. El objetivo del estudio fue demostrar que muy pocos estudios investigaron adecuadamente la efectividad real y la seguridad de los productos naturales en el

tratamiento de la tos aguda. Hay algunas pruebas, proporcionadas por ensayos controlados aleatorios pediátricos, sobre la miel, un producto multicomponente (que contiene *Plantago lanceolata*, *Grindelia robusta*, *Helichrysum italicum* y miel) y *Pelargonium sidoides*. Concluye que urge realizar estudios rigurosos que confirmen la eficacia y seguridad de los productos naturales para el alivio de la tos aguda posviral la cual es frecuente en la infancia y la adolescencia. Además, que existe un interés creciente por el uso de remedios naturales para la tos posviral y que muchos medicamentos a base de hierbas podrían usarse satisfactoriamente para este problema (10).

- Gierlikowska Bárbara y colaboradores (2021) en su estudio: “El extracto de *Grindelia squarrosa* y el ácido grindélico modulan las funciones proinflamatorias del epitelio respiratorio y los macrófagos humanos”; llegaron a la conclusión que sus resultados obtenidos apoyan el uso tradicional de las preparaciones de *Grindelia squarrosa* para el tratamiento de síntomas de enfermedades asociadas al resfriado. Además, manifiestan que el efecto biológico observado del extracto puede ser consecuencia del efecto sinérgico de todos los compuestos presentes en el extracto (11).
- Gierlikowska B y colaboradores (2020) en su estudio “*Inula helenium* y *Grindelia squarrosa* como fuente de compuestos con actividad antiinflamatoria en neutrófilos humanos y epitelio respiratorio humano cultivado”, concluyeron que su estudio demostró que *Inula helenium* y *Grindelia squarrosa*, que se han utilizado tradicionalmente en Europa como plantas medicinales, son una valiosa fuente de compuestos activos con actividad antiinflamatoria. Manifiestan que sus observaciones justifican el uso tradicional de *I. helenium* y *G. squarrosa* para el tratamiento de enfermedades inflamatorias en las vías respiratorias (12).
- Veres Katalin y colaboradores (2014) en el trabajo “Composición química de los aceites esenciales de *Grindelia squarrosa* y *G. hirsutula*”, mencionan que la identificación de los constituyentes se logró a partir de sus índices de retención y la comparación de sus datos de MS con la base de datos de la biblioteca informática y los datos de la literatura. Que los cincuenta y seis constituyentes identificados representaron el 72,1-81,3% de los aceites. Además, encontraron que los aceites contenían a-pineno, beta-pineno, limoneno, borneol, acetato de bornilo y germacreno D como componentes principales. Los aceites obtenidos de las dos especies mostraron

pequeñas diferencias en la composición química. Sin embargo, solo se detectaron mentol, mentona y pulegona en el aceite esencial de *G. hirsutula* (13).

1.3 Justificación e Importancia.

Al haber consultado diferentes bases de datos hemos encontrado poco o escaso conocimiento científico sobre las propiedades terapéuticas que se le atribuyen a las partes aéreas de *Grindelia tarapacana Phil*; esto nos abrió el camino para tomar la decisión de investigar la actividad antioxidante de esta especie vegetal, tomando como base los pocos conocimientos preliminares que permitan realizar estudios que justifiquen las actividades atribuidas. El presente trabajo busca recopilar información y efectuar la investigación que ayude a respaldar el uso de esta especie vegetal en la medicina tradicional, pero que además sirva para futuros estudios con la finalidad de afianzar o comprobar su utilidad, fortaleciendo las bases científicas de futuras investigaciones de esta especie vegetal.

En la actualidad se difunde, se dice o se habla de los grandes beneficios que los antioxidantes ofrecen o brindan a las personas, existe una cuantiosa variedad de estudios y reseñas a través de los cuales se afirma que los alimentos con un alto contenido de antioxidantes son considerados alimentos funcionales ya que ayudan a controlar los radicales libres o el estrés oxidativo de las células (14).

En la Provincia de Huaraz, Región Ancash, se utiliza *Grindelia tarapacana Phil* “chiri-chiri”, tanto sus partes aéreas como sus raíces en base a los conocimientos tradicionales transmitidos por generaciones a través del tiempo, en otras zonas de nuestro país mediante la medicina popular también se usa esta especie principalmente en forma de infusión; sin embargo estos usos destinados para combatir algunas dolencias o males de la población no cuentan con estudios, fundamento o base científica: por lo que se hace necesario que se investigue científicamente la acción o actividades atribuidas, por lo que con nuestra investigación buscamos que establecer las bases para posteriores investigaciones o estudios.

1.4 Objetivos de la Investigación.

Objetivo General

- Evaluar la capacidad antioxidante en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana Phil* “chiri-chiri”.

Objetivo Específico

- Determinar los posibles grupos de componentes químicos presentes en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana Phil* “chiri-chiri”.

- Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri” por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP.
- Identificar el método antioxidante que presenta mayor actividad en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri”.

1.5 Marco Teórico

1.5.1 *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri”.

Pertenece a la familia Asteraceae que es una de las más diversas dentro de la flora peruana la misma que se encuentra muy difundida en nuestro territorio, incluso se menciona que esta ocuparía el segundo lugar entre las familias de la flora peruana; se pueden encontrar como hierbas, arbustos y subarbustos, ocupan la mayoría de las regiones ecológicas, pero principalmente se ubican entre los 2900 a 3500 m.s.n.m. (8).



Figura 1. Planta de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri” al estado natural.

Descripción de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri”.

Es un arbusto bajo resinoso, perenne, crece hasta 0.5 m de altura, hojas oblanceoladas coriáceas de hasta 3 cm de largo, flores centrales tubulosas y las exteriores liguladas, con capítulos radiados, solitarios y menores a 2,5 cm, filarias externas lineales, ensanchadas en la base, reflexas y recubiertas por glándulas sésiles, y aquenios

prismáticos (8, 15).



Figura 2. Hojas y unidades floridas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri”.

Fuente: <https://ecuador.inaturalist.org/photos/195833808>

Distribución de la especie

Es un miembro de la familia Astaraceae, especie netamente andina, endémica del Perú austral y el desierto septentrional chileno, tiene 161 especies descritas y de estas solo 61 son aceptadas, se encuentra distribuida en países como los Estados Unidos, México, Perú, Bolivia, Chile y Argentina. habita entre los 2500 y 3500 msnm, es característica de zonas templadas y templado cálidas de América (8).



Figura 3. Ubicación de la zona de distribución de la especie donde se muestreo

Fuente: imagen Google maps

Taxonomía:

La muestra fue identificada en el museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (N°127-USM-2018) según el sistema de clasificación de Cronquist (1988). Se tiene la siguiente posición taxonómica:

Reino: Plantae

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Orden: Asterales Link

Familia: Asteraceae Bercht. & J. Presl

Género: Grindelia Willd.

Especie: Grindelia tarapacana Phil.

Nombre común: en Perú chiri-chiri, en Chile Keñakeña, chinchillawa, bailahuén

Usos de la especie

Gracias a la sabiduría y conocimientos de nuestros ancestros; costumbres de los pueblos principalmente de nuestras serranías; así como de la divulgación y transferencia de los conocimientos o saberes a través de generaciones se pueden conocer algunos usos de esta especie vegetal dentro de la medicina tradicional y complementaria. Mediante los diferentes usos que le da población podemos citar que esta especie vegetal es utilizada para la amigdalitis u afecciones a la garganta, para la tos, caracha, heridas, golpes, problemas oculares y para el cáncer.

1.5.2 Capacidad Antioxidante

Se define la capacidad antioxidante como la acción de una sustancia o elemento para inhibir el proceso de degradación oxidativa

Antioxidante.- Sustancia que tiene la capacidad de prevenir o retardar la oxidación de un sustrato, entendiendo al sustrato como las moléculas dianas sobre las que actúa (lípidos, proteínas, hidratos de carbono e incluso el ADN). Un antioxidante puede ser capaz de reacciona con los radicales libres inactivándolos o bloqueándolos, saneando y evitando el deterioro ocasionado por la oxidación acumulada (16).

Tabla 1. Tipos de antioxidantes

Antioxidantes enzimáticos	Ubicación celular	Propiedades antioxidantes
Mn superóxido dismutasa	Mitocondria	Dismuta radicales peróxido
Cu-Zn superóxido dismutasa	Citosol	Dismuta radicales superóxido
GHS peroxidasa	Citosol y mitocondria	Remueve H ₂ O ₂ y hidroperóxidos orgánicos
Catalasa	Citosol y mitocondria	Remueve H ₂ O ₂
Antioxidantes no enzimáticos		
Vitamina E	Compuestos fenólicos solubles en lípidos; localizada en membranas.	Principal antioxidante que disrumpe la cadena de peroxidación lipídica.
Vitamina C (ácido ascórbico)	Soluble en agua; localizada en citosol.	Neutraliza una amplia variedad de ROS en fase acuosa; regenera vitamina E.
GSH	Citosol y mitocondria.	
Ácido lipoico	Tiol endógeno; localizado tanto en la fase acuosa como en la lipídica	Interviene en el reciclado de vitamina C; puede ser buen sustituto de GSH.
Ubiquinonas	Derivados de quinona soluble en lípidos; localizadas en membrana.	Las formas reducidas son antioxidantes eficientes.
Carotenoides	Soluble en lípidos; localizados principalmente en membranas.	Antioxidantes; reducen la peroxidación lipídica.

Fuente: <https://www.efdeportes.com/efd66/oxid.htm>

La alimentación actual que posee como complemento presencia de antioxidantes elevados, se le atribuye beneficios a la salud, sustentada en estudios epidemiológicos y clínicos han demostrado que existe una estrecha correlación entre la dieta, estilo de vida, exposición a la radiación y otros factores (16).



Figura 4. Antioxidantes presentes en alimentos

Fuentes: <https://www.botanical-online.com/dietas/antioxidantes-naturales-propiedades-tipos>

Beneficios de los antioxidantes

Los antioxidantes ofrecen diversos beneficios para la salud, que está determinado por la reactividad química; el acceso hasta el lugar de reacción y la estabilidad de los productos desarrollados después del proceso de estabilización de radicales libres. En lo referente a la prevención de padecimientos o males que afectan a las personas tales como: diabetes, cáncer de corazón y pulmones, enfermedades autoinmunes, envejecimiento, mal del Párkinson, cataratas, enfermedades degenerativas de la piel, ojos y el cerebro, asociadas a un incremento en las especies oxidantes y una disminución notable de los mecanismos de detoxificación de ellas; algunos mecanismos o vías serían: Favorecen a contener las transformaciones liberadas durante el ataque de los radicales libres. El adicionar β caroteno contribuye a inmovilizar los cambios malignos causados por los radicales libres, lo que previene que éstos agredan el material hereditario en las células (5,7)

Métodos y Mecanismos de acción de los antioxidantes

Existen métodos directos e indirectos para determinar la capacidad antioxidante de un compuesto, aunque también se suele clasificarlos por el mecanismo acción mediante el cual ocurre el proceso antioxidante. Los métodos indirectos experimentan la habilidad del antioxidante para estabilizar algún radical libre, asimismo se considera que estos métodos pueden medir la capacidad de donación de hidrógenos. Por otro lado, los métodos directos se establecen en el efecto del antioxidante sobre inhibición de una etapa del proceso de degradación oxidativa de un sistema (16, 17, 18).

Así pues, los antioxidantes van a inactivar los radicales libres empleando de preferencia dos mecanismos, uno va estar fundado en la transferencia de átomos de hidrogeno (THA), los cuales calculan la capacidad para estabilizar un radical libre a través de la transferencia de átomos de hidrogeno aquí se ubica el método DPPH; el otro es el mecanismo basado en la transferencia de electrones simples (SET), aquí se ubican los métodos FRAP y ABTS, estos métodos establecen la capacidad de un antioxidante para transferir un electrón y reducir un compuesto (16, 17, 18).

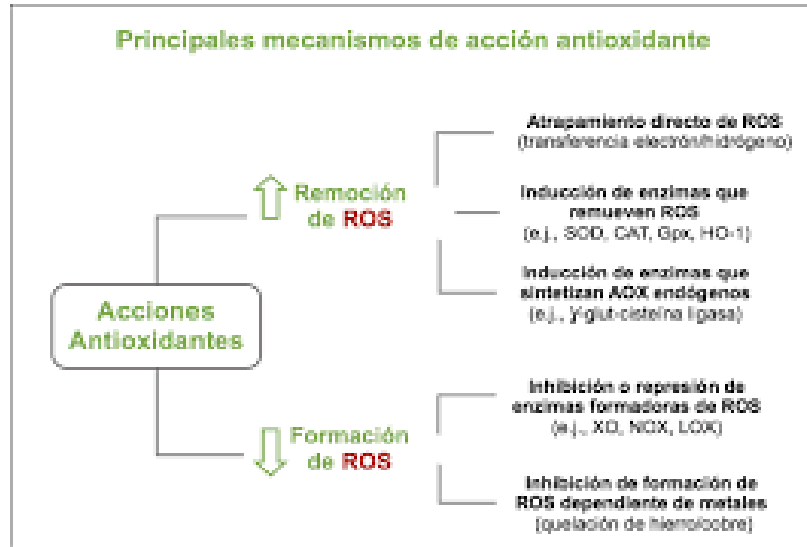


Figura 5. Principales mecanismos de acción de antioxidantes

Fuente: <https://portalantioxidantes.com/antioxidantes/>

1.5.3 Radicales Libres

Los radicales libres son especies moleculares altamente reactivas que poseen con un electrón libre (no apareado); que sólo perduran durante un tiempo muy transitorio antes de interactuar con otra molécula y extraer o otorgar un electrón para alcanzar la estabilidad. Al hacerlo, producen un nuevo radical desde el sustrato con el cual reaccionaron. La primordial manera en cual se puede inactivar un radical libre, y terminar con la reacción en cadena, es la interacción entre dos radicales libres, para que ambos electrones desapareados formen par en una u otra de las moléculas iniciales. Este suceso es insólito, debido al breve tiempo de vida media que caracteriza a un radical individual y las bajas concentraciones en que se hallan los radicales a nivel de los tejidos. Los más nocivos radicales libres para los sistemas biológicos, son los producidos por el oxígeno (designados como especies reactivas de oxígeno ROS), principalmente hidroxilo, superóxido y perhidroxilo. El daño en los tejidos originado por los radicales de oxígeno se suele denominar daño oxidativo (19).

Radical superóxido	O_2^{\cdot}
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2
Radical hidroxilo	OH^{\cdot}
Óxido nítrico	NO^{\cdot}
Hidroperóxido	$ROOH^{\cdot}$
Peroxinitrilo	$ONOO^{\cdot}$

Figura 6. Radicales libres

Fuente: http://www.portalfitness.com/9091_que-son-los-radicales-libres-como-se-forman-y-para-que-sirven.aspx

Las especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) son radicales libres que provienen de la molécula de oxígeno (O_2) por una reducción química parcial. En este grupo de compuestos se hallan los peróxidos de hidrógeno (H_2O_2), producidos cuando el Oxígeno es reducido con dos electrones, y los clases reactivos del oxígeno, que involucran a los superóxidos y al radical hidroxilo (OH^{\cdot}) (20)

Las ROS cumplen un papel importante e incuestionable en los diversos procesos fisiológicos, ya que participan en un amplio rango de funciones biológicas en la señalización celular y en la enzimología; pero también, pueden originar efectos tóxicos. Las ROS son consecuencias del propio metabolismo y son esenciales en la biosíntesis de los compuestos biológicamente esenciales, el proceso de producción de energía y en el proceso fagocitario; proceso este último fundamental dentro del sistema inmunológico. También desempeñan un rol esencial y transcendental para la interrelacion y funcionamiento de las células. En los últimos años se ha incrementado la evidencia que explican que las ROS consiguen ser las generadoras de diferentes padecimientos como, enfermedades degenerativas, coronarias, incluso el cáncer y el envejecimiento. La acción del radical hidroxilo frente a las grasas insaturadas es la cascada más fiel del daño provocado por radicales a nivel de ADN (20, 21)



Figura 7. Fuentes de formación de radicales libres.
Fuente: <https://es.slideshare.net/AnteroMD/radicales-libres-presentation>

1.5.5 Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo es un estado fisiológico derivado de diversos procesos patológicos o bajo ciertas condiciones específicas como por ejemplo el proceso de envejecimiento. En esta condición varios factores de crecimiento y citosinas, algunas enzimas entre la que sobresale NADPH oxidasa a nivel de los neutrófilos forman ROS como mediadores en la señalización. El estrés oxidativo también relacionado con los procesos de oxidación/reducción de grupos sulfhídricos (-SH) en los residuos de cisteína en sitios catalíticos específicos de algunas proteínas que se circulan como detectoras de dicho estado. Estas proteínas transforman su estructura conformacional al reducir u oxidar los grupos sulfhídricos presentes y pasar a -S-S, por lo se conseguirían activar ciertas rutas de señalización o liberación de algunos factores de transcripción que se impulsan y son capaces de inducir translocación a nivel nuclear (19).

II. ESTRATEGIA METODOLOGICA

2.1 Tipo, Nivel y Diseño de la Investigación

2.1.1 Tipo de Investigación:

Esta investigación nos permitió conocer y obtener información fundamental sobre la presencia de los metabolitos secundarios que están presentes en las partes aéreas de esta especie vegetal, los cuales fueron extraídos mediante el proceso de maceración con alcohol de 96° (22)

2.1.2 Nivel de Investigación:

La investigación es de corte descriptiva porque intentamos describir y explicar la relación que existen entre compuestos determinados en el screening con la actividad antioxidante a determinada (22).

2.1.3 Diseño de Investigación:

Analítico -experimental. Este estudio se fundamenta en una recopilación de proyectos o trabajos de investigación los mismos que utilizaron en la manipulación o pruebas controladas para comprender los procesos causales. En general, una variable fue objeto de manipulación para determinar el efecto sobre la variable dependiente. La prueba experimental donde el investigador manipulo una variable, efectuando un control. En algunos casos se contó con un grupo control (22) .

2.2 Lugar de Investigación:

Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Facultad de Farmacia y Bioquímica, departamento de Ciencias Químicas, laboratorio de química general y laboratorio de análisis instrumental.

2.3 Materiales de Trabajo

2.3.1 Materiales de Laboratorio:

- Probetas 50 ml, 100 ml y 250 mL
- Matraces

- Fiolas
- Vasos de precipitados
- Agitadores de vidrio
- Peras de decantación
- embudos
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Espátulas de metal
- Vasos de vidrio
- Soporte universal
- Luna de reloj
- Pinzas metálicas
- Placa de reacción
- Micropipetas de 100 uL
- Micropipetas de 1000uL
- Pipetas de 5 ml y 10 ml
- Propipetas
- frasco goteros
- Viales
- Peras de Bromo
- Soporte Universal
- Aro de Soporte

2.3.2 Equipos de Laboratorio:

- Balanza Analítica
- Potenciómetro
- Estufa
- Mufla

- Evaporador rotatorio
- Ventilador
- Espectrofotómetro UV-Visible
- Baño ultrasonido
- Agitador magnético

2.3.3 Reactivos

- Agua destilada
- Etanol
- Alcohol 70°
- Tricloruro férrico
- Cloroformo
- Diclorometano
- Ácido Clorhídrico
- Acetato de sodio
- Ácido acético glacial
- Hidróxido de Amonio 25%
- Ácido nítrico
- 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH)
- Metanol
- 2,4,6- tripiridyl-s-triazida (TPTZ)
- Buffer fosfato
- Trolox Hoffmann
- ABTS

- Persulfato de sodio

2.3.4 Otros

- Papel aluminio
- Papel toalla
- Guantes
- Mascarilla
- Papel filtro
- Papel tissu
- Paños yes
- Plumón marcador

2.4 Hipótesis y Variables.

2.4.1 Hipótesis

a. General:

El extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana Phil* “chiri-chiri” presenta una apreciable capacidad antioxidante.

b. Especificas

- Los principales grupos de compuestos bioactivos presente en el extracto etanólico *Grindelia tarapacana Phil* “chiri-chiri” son de naturaleza flavonoides.
- El extracto etanólico de las partes aéreas de la planta *Grindelia tarapacana Phil* “chiri-chiri” presenta actividad antioxidante por los 3 métodos analizados.
- El método ABTS presentará mayor actividad antioxidante en el extracto etanólico de las partes aéreas de la planta *Grindelia tarapacana Phil* “chiri-chiri”.

2.4.2 Variables

V. Independiente		
Variable	Indicador	Índice
Extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Grindelia tarapacana</i> Phil “chiri-chiri”.	Metabolitos secundarios.	Reacciones de coloración y precipitación.
	Parámetros fisicoquímicos.	Sólidos totales, sólidos solubles, pH, cenizas.
V. Dependiente		
Variable	Indicador	Índice
Actividad Antioxidante.	Método DPPH	IC ₅₀
	Método FRAP	TEAC
	Método ABTS	TEAC

2.5 Población y Muestra

2.5.1 Población:

Las partes aéreas de la especie *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri” de la zona de Huaraz en el departamento de Ancash

2.5.2 Muestra:

Extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri”

2.6 Métodos, técnicas y procedimientos para la recolección de datos

2.6.1 Recolección y clasificación de la muestra vegetal

La especie fue *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri” recolectada por el autor en la Provincia de Huaraz, Región Ancash a 3058 msnm, este trabajo se realizó en las primeras horas de la mañana tal como se indica en la bibliografía revisada, utilizando tijeras de

corte, bolsas de papel Kraft para guardar la muestra previa selección inicial, posteriormente la especie en estudio fue trasladada al laboratorio de química general para el secado inicial y luego trasladada a los ambientes del Instituto de Investigación de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” (23).



Figura 8. Zona de recolección de la especie vegetal

Una porción de esta especie vegetal fue remitida a los ambientes del Museo de Historia Natural de la UNMSM en la ciudad de Lima para que en su respectiva clasificación taxonómica de la misma.

2.6.2 Tratamiento de la muestra vegetal

Selección: Después de haber hecho recolección de la muestra vegetal, procedimos a realizar una selección meticulosa con la finalidad de separar las muestras que se encontraban en mal estado, como picadas por insectos, e incluso presencia de cuerpos extraños; seguidamente, colocamos en bolsas de papel Kraft las muestras seleccionada para evitar el deterioro o cierto proceso de descomposición.

Limpieza: Con las especies ya en el laboratorio prolongamos la limpieza más detallada con la finalidad de eliminar restos de tierra, alguna inmundicia u otras materias extraña; con el objetivo de evitar que estos provoquen algún tipo de alteraciones o interferencias posteriores.

Secado: Esta etapa del estudio se realizó según todas las recomendaciones bajo sombra, es decir se evitó la luz directa del sol, para que no sufriera alteración en su composición química, se colocaron hojas de papel Kraft sobre la superficie de las mesas del laboratorio

a continuación se distribuyeron las plantas sobre estas, permaneciendo un tiempo aproximado de 15 días; realizándose movimientos periódicos con la finalidad de lograr un secado uniforme y que las plantas se airee; transcurrido este tiempo se procedió a cortar y triturar las partes aéreas de la planta y su posterior molienda.

Conservación: La muestra vegetal se colocaron y almacenaron en bolsas confeccionadas de papel Kraft, colocando su respectiva etiqueta de identificación que contenía el nombre de la planta, lugar de procedencia, fecha y nombre del investigador; se guardaron bajo sombra hasta las fechas que se realizaron los respectivos estudio.

2.6.3 Obtención del extracto etanólico

Partes aéreas seca y molida de la especie se empleó para el proceso de obtención del macerado mediante extracción con etanol 96° por un espacio de 15 días, con agitación habitualmente interdiaria. Se efectuó la separación del extracto sobrenadante del marco por filtración y posterior concentración en un evaporador rotatorio para finalmente ser secada en una estufa a una temperatura menor a los cuarenta grados

2.6.4 Screening Fitoquímico:

Los principios activos de las plantas están comprendido dentro de los denominados compuestos bioactivos o “metabolitos secundarios”, que son compuestos de estructuras químicas relativamente complejas y de distribución restringida y característica de fuentes botánicas específicas. Al ocuparse del estudio de muestras vegetales, el screening fitoquímico o tamizaje es la fase inicial de la investigación fitoquímica, que nos permitirá la identificación cualitativa de los principales compuestos o grupos de sustancias químicas que se hallan presentes en los extractos obtenidos de las plantas o en las plantas mismas, lo que nos orienta en la extracción y/o fraccionamiento, para el posterior aislamiento y estudio de los grupos de mayor interés (23, 24).

Obtención de Fracciones

A partir del extracto crudo obtenido, se efectuó el fraccionamiento con solventes de diferentes polaridades. Inicialmente se separa una pequeña porción del extracto crudo al que se le llama **Fracción A.**

A una porción considerable del extracto crudo se extrajo con solución de HCl al 1% (2x20 mL), se filtró y se obtuvo dos partes:

Insoluble: Se lavo con agua destilada hasta pH neutro, seguidamente se disolvió con 5mL de diclorometano, procediéndose a secar los residuos de agua con sulfato de sodio

anhidro, el cual se filtró, este filtrado vino a constituir **la Fracción B** del extracto (23).

Solución ácida: que se obtuvo al filtrar y se alcalinizó con una solución de amoníaco, diluido y extrajo con diclorometano (2x100mL) obteniéndose dos fases:

- **Fase Diclorometánica:** la fase diclorometánica inicialmente se lavó con 10 mL de agua destilada, seguidamente se procedió a secarla con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se obtuvo **la Fracción C** del extracto.
- **Fase Acuosa:** Esta solución fue saturada con 5g sulfato de sodio anhidro y extraída con 100 mL de una mezcla de diclorometano:etanol (3:2) en 2 porciones. Obteniéndose dos fases:

Fase Orgánica: (Diclorometanol-etanol). se trató 10 mL de solución con sulfato de sodio anhidro se lavo, juntando las porciones acuosas, la fase orgánica se deshidratará con 1g de sulfato de sodio anhidro. Se filtra y esto constituye **la Fracción D.**

Fase Acuosa: Se reunieron todos los residuos acuosos derivados de los lavados de las fases orgánicas constituyendo **la Fracción E.**

Independientemente, se mezcló 1g de especie seca y molida con un volumen de 20 mL de agua destilada se removió, e hirvió por 15 minutos. Se filtro en caliente a través de papel filtro y llevo a volumen de 10 mL, se enfrió a temperatura ambiente, esto constituyo **la Fracción F.**

En las fracciones separadas se procedio a realizar reacciones de coloración o precipitación para la identificación de los grupos funcionales y/o grupos de metabolitos presentes en el extracto etanólico

Reacciones sobre las fracciones:

FRACCION A

Detección de Taninos:

- 1. Reacción de gelatina-Sal.-** Se tomaron tres tubos de ensayo a los que se le adiciona 0.5 mL de extracto crudo. Al 1° tubo se adiciono 1 mL de solución de NaCl 5%, al 2° tubo se adiciono una solución de gelatina 1% y al 3° tubo una mezcla de las soluciones gelatina – sal, la observación precipitado en el tubo 3°; así como, en ambos tubos 1° y 2° indico la presencia de taninos,
- 2. Reacción de Cloruro Férrico.-** En un tubo de ensayo se depositó 0,5 mL de la fracción A y se adiciono unas gotas de la disolución acuosa de FeCl₃ 1% . La reacción resulto positiva a la aparición colores azul-negro, verde o azul

verdoso.

Detección de Flavonoides

1. **Reacción de Shinoda.-** Se coloca de la Fracción A dos gotas en un tubo de ensayo, adicionar unas limaduras de magnesio y HCl concentrado unas 3 gotas. El cambio de color indica que la reacción es positiva cuando resultan tonos de color rojo, anaranjado y violeta.

Detección de Aminoácidos

1. **Reacción de Ninhidrina.-** Se acondicionaron tiras de papel filtro y con una pipeta capilar se colocaron:
 1. Una gota de Fracción A, y una gota de ninhidrina al 2% en acetona.
 2. Blanco: Solución de ninhidrina al 2%.

Secaron las tiras a temperatura ambiente, luego se colocaron en una estufa hasta la aparición de un color marrón en el blanco.

La reacción resulto positiva cuando en el papel de la muestra presento un color azul violáceo.

FRACCION B

Detección de Triterpenoides y/o Esteroides:

1. **Reacción de Liebermann Burchard:** Se Tomo 1 mL de la fracción y se adiciono unas gotas 5 de ácido acético, seguidamente agrego 3 mL de la mezcla anhídrido acético/ácido sulfúrico (50:1).

La aparición de colores entre verdes, azul verdoso indico reacción positiva.

Detección de Antraquinonas:

1. **Reacción de Bornträger:** Se disolvió una porción de la fracción B en diclorometano, a la cual se adiciono 5 mL de solución de NaOH 5% , agitando suavemente. La reacción fue positiva a la aparición de un color rojo en la fase acuosa.

FRACCION C

Detección de Triterpenoides y/o Esteroides:

Se realizo al igual como se indicó en la fracción B.

Detección de Alcaloides

Se coloco en 4 tubos de ensayo independientes 2 mL de Fracción C y 1 mL de solución de HCl 1% y luego se adiciono a lo siguiente:

- ✓ **Blanco:** se toma como referenciade observación
- ✓ **Dragendorff:** Se agrego 2-4 gotas de reactivo y observo la formación de precipitado anaranjado.
- ✓ **Mayer:** Se agrego 2 - 4 gotas de reactivo y observo presencia de precipitado blanco.
- ✓ **Hager:** Se agrego 2 - 4 gotas de reactivo y observo un precipitado amarillo.

FRACCION D

Se llevo a sequedad y luego se adiciono 2,5 mL de etanol, se realizando las siguientes reacciones:

Detección de Flavonoides:

Reacción de Shinoda., como se indicó anteriormente

Detección de Leucoantocianidinas y catequinas:

1. **Reacción de Rosenheim:** se tomó 0,2 mL de la fracción D, agregando 0,1 mL de HCl concentrado, luego se calentó por 10 minutos a 100 °C. Se enfrio, y adiciono 2 mL de agua y 0,4 mL de alcohol amílico, sacudiendo suavemente y observando aparición de color en la fase amílica.

La aparición de color indico reacción positiva, y la tonalidad va desde el rosado débil hasta carmesí oscuro. Rojo indico presencia de antocianidinas, marrón indico presencia de catequinas.

Detección de Cardenólidos:

Se realizo la reacción de kedde que dio resultado negativo.

Detección de Esteroides y/o Triterpenoides:

Según la reacción de Liebermann Burchard antes indicada.

Detección de Alcaloides:

Segun las reacciones de Mayer, Dragendorff, Hager antes mencionadas .

FRACCIÓN E

Detección de Flavonoides:

Según la reacción de Shinoda que dio positiva.

Detección de Leucoantocianidinas:

Por la reacción de Rosenheim que resulto negativa

FRACCION F

Detección de Saponinas

- 1. Prueba de Espuma.-** Se colocó en dos tubos de ensayo 2,5 mL del extracto y se agitó por espacio un minuto vigorosamente. Se dejó en reposo por 15 minutos y observó la formación de espuma. La reacción fue negativa, porque la altura de la espuma fue menor de 5 mm.

2.6.5 Caracterización Físicoquímica del extracto

Sólidos totales.- AOAC 925.03B

Se pesó 2 g con exactitud del extracto en una placa Petri, la cual previamente se había secado a 130° en la estufa y enfriado en el desecador para finalmente pesada cuando alcanzó la temperatura ambiente. La placa conteniendo la muestra se colocó en la estufa por una hora a la temperatura de 130°C, luego se enfrió y peso, el residuo se reportó como porcentaje de sólidos totales (25).

Sólidos solubles: AOAC 932.12.

Se determinó por el método refractométrico, donde se preparó una solución al 10% y luego de haber calibrado el equipo, se realizó la medición directamente en la escala de grados Brix (25)..

Cenizas: AOAC 923.03

Se pesó entre 1 a 3 g del extracto en un crisol previamente incinerado a la temperatura de tratamiento (550°) y enfriado en un desecador. Se carbonizó en una cocinilla eléctrica y luego se incineró en la mufla a 550° por un periodo de 6 horas hasta cenizas grises. Se enfrió en el desecador y peso cuando alcanzó la temperatura ambiente. Se calculó el residuo como porcentaje de cenizas totales (25).

pH: AOAC 981.12

Se determinó por método electrométrico (potenciómetro). Se disolvió 1g del extracto en 10 ml de agua destilada dentro de vaso precipitado de 25 ml. Se calibró el potenciómetro con las soluciones buffers pH 7 y pH 4; luego se introdujo el electrodo se procedió a leer el resultado cuando se estabilizó la lectura (25).

2.6.6 Determinación de la actividad antioxidante

2.6.6.2 Método 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

La capacidad antioxidante del extracto etanólico se efectuó mediante el método descrito por Brand-Williams et al., con ciertas modificaciones.

Preparación del radical DPPH:

Se preparó pesando 3,1 mg de reactivo DPPH y disolviéndose en 100 mL de etanol 96 v/v en un frasco. Esta solución se llevó a baño ultrasonido para garantizar la completa disolución y luego se probó que la absorbancia estuviera entre 0,9 y

1,1 a una longitud de onda de 517 nm.

Preparación de la muestra:

A partir de un peso 0,0752 g del extracto seco se adiciono 5 mL de etanol llevándolo al baño ultrasonido hasta completa; a partir de esta dilución se preparó una series de diluciones por duplicado.

Determinación.- En viales ámbar numerados se tomo 2,9 mL de la solución de DPPH, y se agregó 0,1 mL de cada una de las diluciones realizadas, se agito dejando reposar en oscuridad por 30 min. Luego de transcurrido este tiempo, las muestras se leyeron a 517 nm en el espectrofotómetro de UV/VIS .

Se empleo como blanco de referencia el etanol.

Los resultados experimentales se expresaron porcentaje de inhibición, que luego nos permitió determinar el valor IC₅₀, que es la concentración de la muestra necesaria para originar una inhibición del 50% de la absorbancia inicial del radical libre DPPH (26).

2.6.6.2 Método del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP)

Según lo descrito por Benzie y col²⁷, este método se establece la capacidad antioxidante de una muestra, mediante la reducción del ion hierro férrico (Fe⁺³) dentro del complejo constituido por el 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) a el estado ferroso (Fe⁺²), monitorizado a una longitud de onda de 593nm.

El complejo de reacción FRAP se preparó mezclando buffer acetato 300 mM (pH = 3.6), solución del reactivo TPTZ 10 mM en solución de HCl 40 mM y tricloruro férrico (FeCl₃. 6H₂O) 20 mM disuelto en agua, en la proporción 10:1:1 (v:v:v). Para la determinación se añadió 3 mL de este reactivo en una celda de un centímetro de paso óptico y se mide la absorbancia a 593 nm (inicial). Luego se adiciono 100 µL de las diluciones preparada del extracto, se agito. y dejo en reposo por 6 minuto, después de lo cual se realizó la lectura de absorbancia a 593 nm (final),Para obtener la absorbancia residual se restó la absorbancia del blanco o inicial.

Los resultados fueron expresados en relación al patrón trolox. Para lo que se efectuó una curva de cuantificación entre de concentraciones de 1.00 - 0.03 mM. Todas las determinaciones se efectuaron por duplicado, para expresar la actividad antioxidante los resultados de absorbancia de las diluciones se extrapolaron en la curva patrón mediante la ecuación de esta para expresar la actividad antioxidante en milimoles de trolox (27).

2.6.6.3 Método de reacción con el radical 2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6 sulfonato de amonio) (ABTS)

Se llevó a cabo según el método de Re y col.²⁷. Se fundamenta en la decoloración del radical libre ABTS•+, originada por la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. El ABTS•+ es un radical catiónico, colorante que absorbe la energía radiante a una longitud de onda de 734 nm. Este radical es formado por la reacción de oxidación con persulfato de potasio.

Se preparó el reactivo de trabajo a una concentración 30 µM del reactivo ABTS. Se pesó 0.0504g de la sal amónica del reactivo ABTS y se disolvió en 5 ml de agua grado HPLC, luego se agregó 6.7 mg de persulfato de potasio (K₂S₂O₈), se dejó en descanso un promedio de media protegido de la luz directa del sol, transcurrido el tiempo se enrasó a un matraz volumétrico (fiola) de 10 ml con agua grado HPLC y se dejó interaccionar protegido de la luz durante 12 a 18 horas. Luego se preparó la solución de trabajo empleado 1 ml del radical formado y se agregó alrededor de 70 ml alcohol, se homogenizó y se midió la absorbancia a 734 nm la estuvo en el rango establecido (0.680 ± 0.2).

Determinación de la actividad antioxidante se realizó tomando 2 ml del radical ABTS* en una celda y se midió la absorbancia inicial a 734 nm, se adicionó 50 µl de cada una de las diluciones independientemente, se agitó durante 10 segundos y se dejó reaccionar por 4 minutos de incubación, se midió la absorbancia final. Todas las muestras se analizaron por duplicado.

Los resultados se formulan como la concentración en 1 mg del extracto que tiene la misma actividad antioxidante que una concentración en mM de Trolox. para lo cual se preparó una curva de calibración (28).

2.7 Técnicas de procesamiento de la información

➤ Recolección de datos analíticos

Se ejecutó en los cuadernos de trabajos donde se registraron los resultados obtenidos de las aplicaciones de los diversos procesos analíticos empleadas en cada caso.

➤ Procesamiento de datos

Los datos fueron trabajados en el Programa Microsoft Excel 2013 y se enuncian como promedios a partir de los cuales se transformaron a los gráficos respectivos.

2.8 Técnicas de Análisis e interpretación de la información

Los datos obtenidos durante los diversos procesos de análisis en la determinación de la actividad antioxidante fueron procesados mediante técnicas de análisis paramétricas como: promedio y desviación estándar de cada determinación, y técnicas no paramétricas: coeficiente de correlación que nos permitió hallar IC₅₀ o el TEAC según el método aplicado.

2.9 Aspectos éticos

En la presente investigación hemos cuidado los todos aspectos éticos relevantes que involucran un trabajo universitario como una herramienta del saber científico que logra un avance de la sociedad, obviando el manejo de todos aquellos elementos que pudieran someterse a interés particulares que adulteren los objetivos del estudio. Razón por lo que se ha llevado lo más adecuadamente posible la citación de todos aquellos artículos en los cuales nos hemos basados, vigilando los correspondientes derechos autor, consciente de ellos asumimos las responsabilidades que de ello emanen.

III. RESULTADOS

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de caracterización el extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *Grindelia tarapacana* Phill “chiri-chiri”.

Parámetros	Resultados	Unidades
Sólidos totales	91,84 ± 1,38	g/100g
Humedad	8,15 ± 0,43	g/100g
Sólidos solubles	4,2 ± 0,63	° Brix
pH	4,25 ± 0,17	--
Cenizas	4,52 ± 0,32	g/100g
Color	Negro verdoso	--
Olor	Suigéneris	--
Aspecto	Pasta densa	--

Los valores son promedios de tres repeticiones

Tabla 3. Metabolitos secundarios del extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *Grindelia tarapacana Phil* “chiri - chiri”.

Fracciones obtenidas	Metabolito secundario	Reacción de Identificación	Resultados
A	Reacción Flavonoide	Shinoda	+
	Taninos	Gelatina	-
		Cloruro férrico	+
	Aminoácidos libres	Ninhidrina	+
	Reacción Esteroides/Triterpenos	Liebermann Burchard	+
B	Flavonoides	Shinoda	+
	Quinonas	Borntrager	-
	Reacción Triterpenos/esteroides	Liebermann Burchard	+
C	Lactonas sesquiterpenicas	Kedde	-
	Reaccion Alcaloides	Hager	+
		M Mayer	+
		Drangedorff	+
	Reacción Alcaloides	Hager	+
		M Mayer	+
Drangedorff		+	
D	Reacción Flavonoides	Shinoda	+
	Reacción Leucoantocianidinas	Rosenheim	-
		Liebermann	-
	Triterpenos/esteroides	Burchard	
	Reacción Flavonoides	Shinoda	+
	E	Reacción Saponinas	Espuma

Nota: Para considerar positivos taninos deben dar positivas las dos reacciones.

Tabla 4. Lectura de absorbancia de patrón de trolox por el método de DPPH

trolox mM	Abs1	Abs2	Prom	% Inh
0,75	0,312	0,333	0,323	66,9
0,5	0,576	0,557	0,567	41,9
0,25	0,776	0,789	0,783	19,8
0,125	0,902	0,904	0,903	7,48
0,0625	0,953	0,943	0,948	2,87
0,0315	0,970	0,966	0,968	0,82
Blanco	0,976			

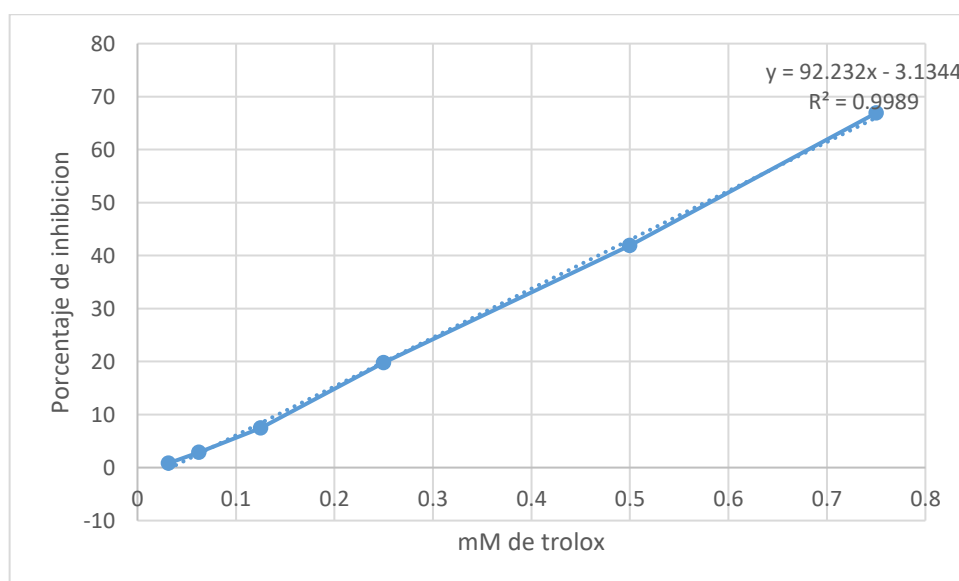


Figura 9. Correlación entre las concentraciones de trolox en mM y % de inhibición del radical DPPH

IC 50= 0,57 mM de trolox

Tabla 5. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de la especie *Grindelia tarapacana Phil Chiri-chiri* por el método DPPH.

Extracto mg/mL	Abs1	Abs2	Abs Prom	% Inh
11,28	0,359	0,367	0,363	62,7
7,52	0,588	0,576	0,582	40,37
3,76	0,776	0,786	0,781	19,99
1,88	0,877	0,871	0,874	10,5
0,94	0,914	0,925	0,920	5,74
0,47	0,952	0,954	0,953	2,36
Blanco	0,976			

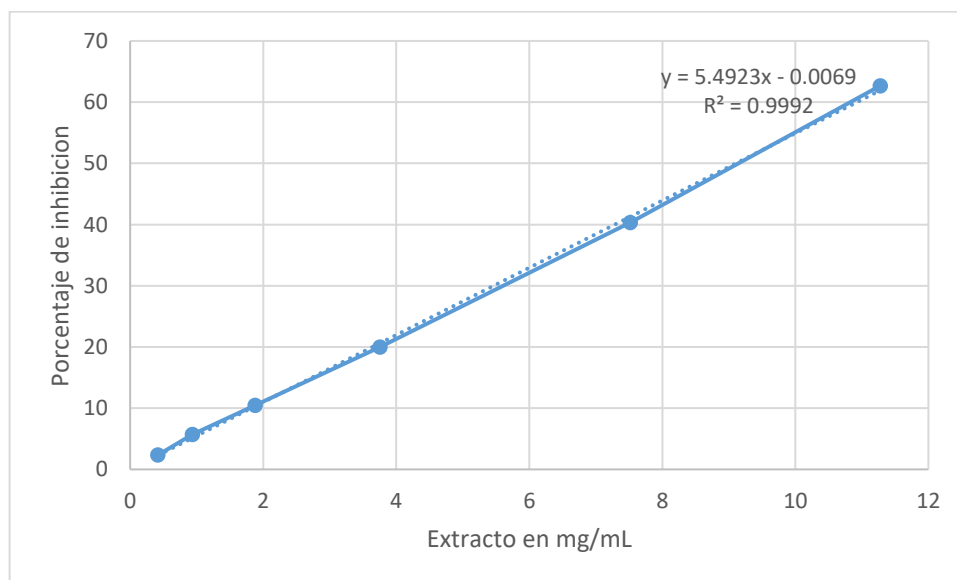


Figura 10. Correlación entre las concentraciones de extracto en mg/mL y % de inhibición del radical DPPH

IC50 = 9,10 mg

0,57 mM de trolox equivalente a 9,10 mg/mL de extracto

1mM de trolox es equivalente a 15,9mg/mL DPPH

Tabla 6. Valores de absorbancia de las diluciones patrones de trolox por el método FRAP

mM Trolox	Abs 1	Abs2	Promedio
0,0312	0,064	0,065	0,064
0,0625	0,110	0,112	0,111
0,125	0,207	0,201	0,204
0,25	0,425	0,413	0,419
0,5	0,764	0,762	0,763
1	1,389	1,363	1,376

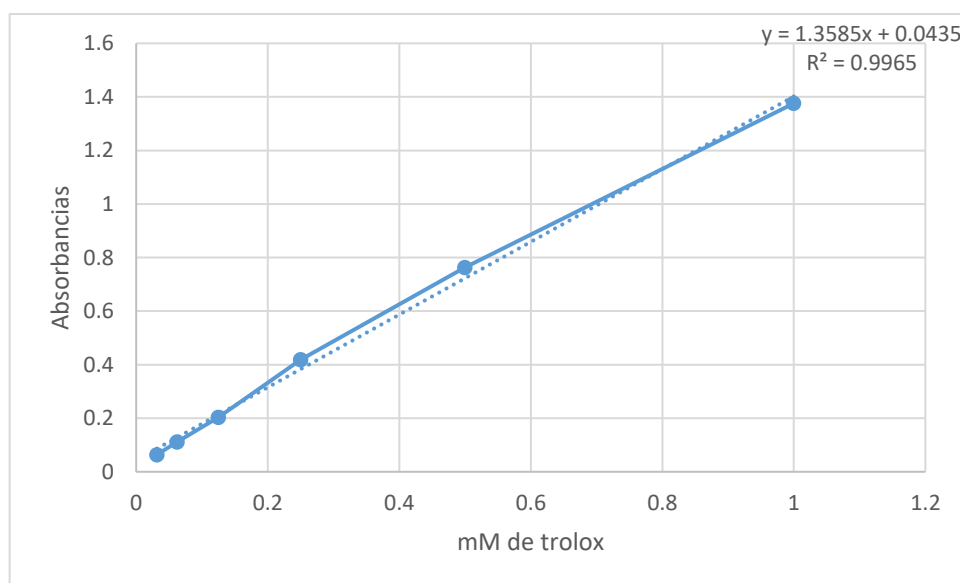


Figura 11. Curva de calibración del patrón para la establecer la actividad antioxidante por el método FRAP

Tabla 7. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de la especie *Grindelia tarapacana Phil* “chiri - chiri”. por el método FRAP.

Extracto mg/mL	Abs1	Abs2	Prom	TEAC
7,52	1,692	1,592	1,642	1,176
3,76	0,796	0,812	0,804	0,559
1,88	0,373	0,371	0,372	0,242
0,94	0,118	0,122	0,120	0,056
0,47	0,065	0,061	0,063	0,014

Nota: Abs = absorbancia Prom = promedio
 TEAC = Capacidad antioxidante equivalente al trolox

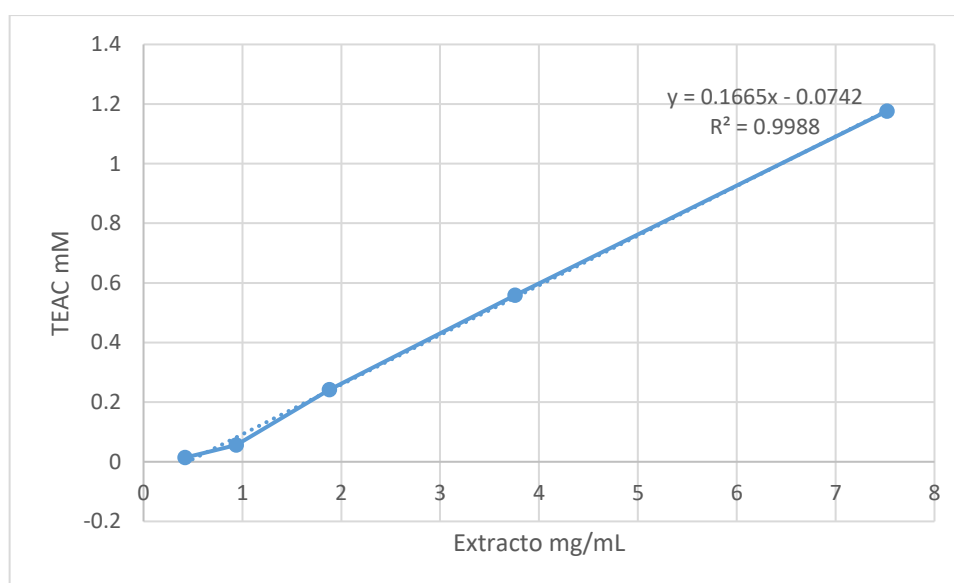


Figura 12. Curva entre concentración del extracto etanólico de la especie *Grindelia tarapacana Chiri-chiri* y TEAC (mM)

1mM de trolox equivale a 6,45 mg/mL de extracto
Por el método FRAP

Tabla 8. Lectura de absorbancia de las disoluciones de trolox por el método de ABTS.

mM trolox	Abs inicial	Abs1	Abs 2	Prom	Abs final
0.0152	0.683	0.541	0.659	0.650	0.033
0.0325	0.683	0.633	0.637	0.635	0.048
0.0625	0.683	0.614	0.604	0.609	0.074
0.125	0.683	0.545	0.547	0.546	0.137
0.25	0.683	0.470	0.460	0.465	0.218
0.5	0.683	0.254	0.238	0.246	0.437

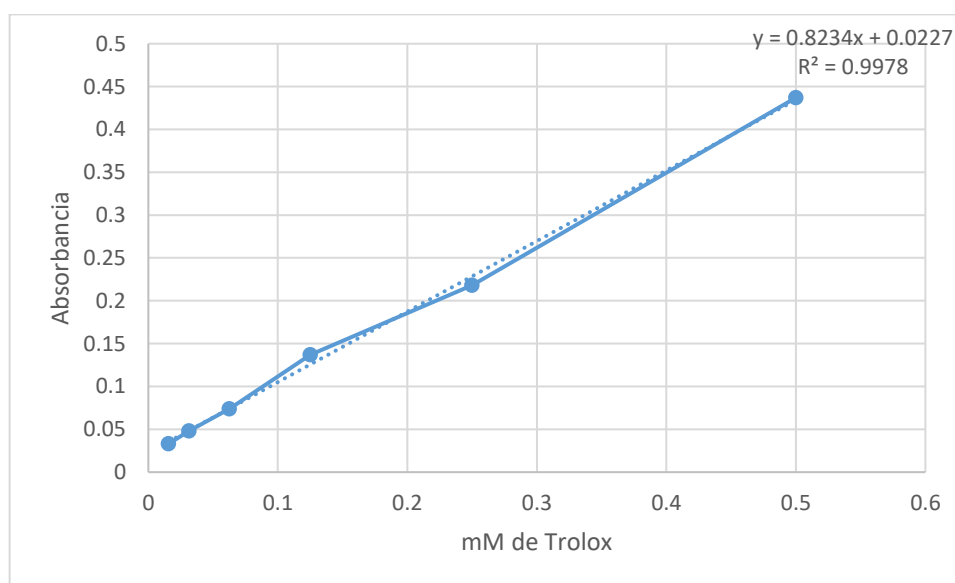


Figura 13. Curva de cuantificación de trolox para la actividad antioxidante por el método ABTS

Tabla 9. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de la especie *Grindelia tarapacana* Phill “chiri-chiri” por el método ABTS.

mg/mL de extracto	Abs 1	abs2	Prom	TEAC
7,52	0.340	0.336	0.345	0.391
3,76	0.476	0.477	0.206	0.223
1,88	0.538	0.537	0.145	0.142
0,94	0.584	0.586	0.097	0.090
0,47	0,612	0,608	0,073	0,055

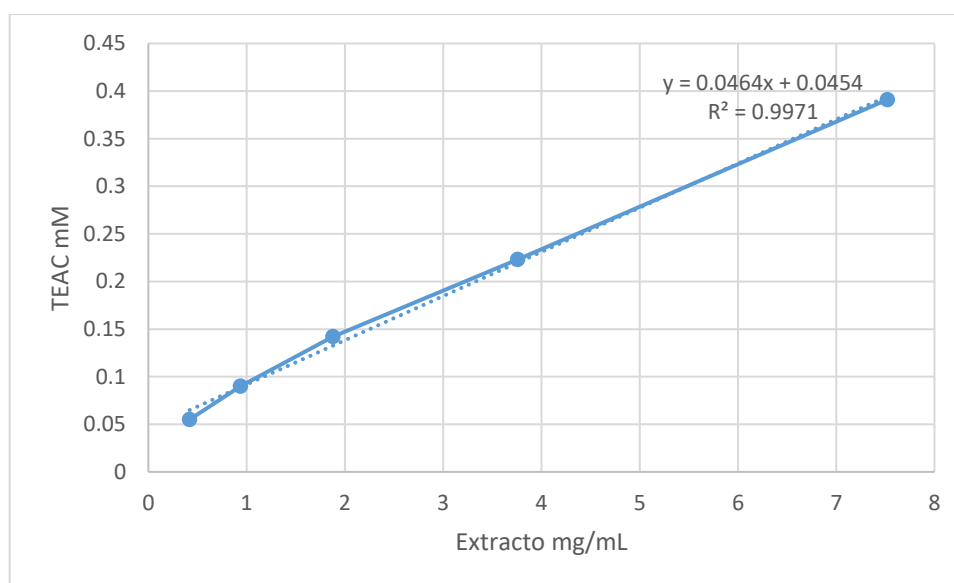


Figura 14. Curva entre concentración de extracto etanólico de la especie *Grindelia tarapacana* y capacidad antioxidante equivalente a trolox como mM.

**1mM de trolox equivale a 20,5 mg/mL
el método ABTS**

IV. DISCUSION

La región de Ica, es una de las que presentan mayores microclima dentro de un país tan megadiverso como es el Perú, en la cual encontramos zócalo continental, desiertos, valles interandinos, plegamientos rocosos que le dan una riqueza florística endémica. La familia Asteraceae es una de las mas grande dentro de las plantas con flores, a muchas de las cuales según la medicina tradicional atribuye una serie de propiedades (1). Teniendo conocimiento que una considerable porcentaje de la población mundial no tiene acceso a la medicina holística y recurren al usos de plantas medicinales para el tratamiento de muchas enfermedades en bases a sapiencias ancestrales transmitidos a través de generaciones (4), se hace una necesidad estudiar y conocer las diversas especies utilizadas por la medicina popular, como la *Grindelia tarapacana* Phill chiri-chiri a la que se le atribuye propiedades cicatrizantes y anticancerígena (1,15). La especie vegetal objeto del presente estudio fue recolectada en la zona de Huaraz en el departamento de Ancash a unos msnm, de la cual considerando que es una especie herbácea se cortó con unas tijeras de podar las partes aéreas formadas por hojas, tallos y unidades floridas. se trasladó hasta las instalaciones de la universidad donde fue secada y triturada, para la obtención del extracto etanólico por maceración en alcohol de 96 °C por el lapso 15 días, que al ser concentrado, se obtuvo las características descritas en la tabla 2, pasta densa viscosa de color verde oscuro, presentado un contenido de humedad de 8,15 %; y solidos totales de 91,84%, lo que representa un extracto bastante seco y con un alto contenido de compuestos orgánicos e inorgánicos presentes; asimismo podemos indicar que tiene una cantidad apreciable de sólidos solubles ya que en una solución al 10% de extracto se obtuvo un valor de 4,2 lo que equivale a que un 42% de esos compuestos o solidos totales son solubles en agua, el contenido de cenizas represento un 4,52 %; y un rango ácido de aproximadamente un pH de 4,25 estos parámetros son importantes a considerar si tratamos de establecer un proceso de estandarización del extracto obtenido de una especie para tener referencia confiable y conocida de las futuras propiedades atribuidas.

En lo que respecta a los resultados del screening presencia de grupos de metabolitos secundarios tabla 3, se realizó en las diferentes fracciones las reacciones de precipitación y/o coloración según Lock 2016 (23). Es así que en la fracción A se obtuvo resultado positivo a las reacciones de Shinoda, cloruro férrico y ninhidrina que indica la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos libres y aminoácidos; En la fracción B, solo se obtuvo resultado positivo para las reacciones de Liebermann Burchard y la reacción de Shinoda lo que indica compuestos de naturaleza triterpenoides y/o esteroides, y compuestos flavonoides. Tanto las fracciones C y D dieron positivas a las reacciones de

alcaloides (Mayer, Hager y drangedorff) y triterpenos o esteroides (Liebermann Burchard) y por último la fracción E, dio positiva a Shinoda y la prueba de la espuma. En lo referente a estos compuestos, ya en el año 1993 Wollenweber (29) destacaba que en la especie de *Grindela tarapacana* que crecía en la zona árida y semiárida del norte de Chile, predomina en el exudado de sus parte aérea la presencia de compuestos terpenicos y flavonoides que le ayudarían a adaptarse a dichas condiciones ambientales; de igual manera Zhou en el 1994 (30), aisló 7 nuevos diterpenos y 2 conocidos, así como un esteroide conocido; y 10 flavonoides conocidos todos estos en una especie de *Grindela tarapacana* Phill del desierto de Atacama. También Schepetkin et al 2022 (31) , reporta en la especie *Grindela squarrosa* como componentes principales del aceite esencial de hojas y flores compuestos de naturaleza terpenica principalmente y flavonoide; por lo que los resultados aquí son concordantes con lo que la literatura reporta.

Considerando lo complejo de la composición de los extractos vegetales y las propiedades atribuidas por la medicina tradicional a los extractos y aceites esenciales de esta especie, en el uso de diversas enfermedades degenerativas, donde muchas de ellas tienen relación con la generación del estrés oxidativos, se determinó la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de la especie por tres métodos como fueron DPPH, FRAP y ABTS, para poder realizar una comparación de dicha actividad por los métodos antes indicados, a pesar de actuar por mecanismo diferentes se valoró frente al patrón Trolox, el cual se considera que es el equivalente hidrosoluble de la vitamina E. En la actividad antioxidante por captación del radical DPPH, que prioriza el mecanismo de la transferencia de átomos de hidrogeno, podemos apreciar en la tabla 4 y la figura 7 que primero hemos realizado una cuantificación y el correspondiente porcentaje de inhibición de las diversas soluciones del patrón trolox obteniendo un IC50 de 0,57 mM de trolox, para luego realizar dicho proceso de manera idéntica y bajo las misma condiciones para las disoluciones del extracto lo que permitió hallar IC50 de 9,10 mg de extracto (tabla 5); por lo tanto podemos realizar la correspondiente equivalencia diciendo que 9,10mg de extracto poseen la misma actividad antioxidante que 0,57mM de trolox por el método DPPH. En la tabla 6 podemos apreciar las absorbancias de las diversas soluciones de trolox utilizado como patrón o estándar para la evaluación de la actividad antioxidante por el método de FRAP; lo que nos llevó a establecer el grafico de correlación de concentración de las soluciones de trolox y sus absorbancias (figura 9), este nos da la ecuación de la curva que nos permitirá determinar el TEAC correspondiente. La tabla 7 se aprecia las diversas diluciones del extracto, sus absorbancia y su respectivo TEAC y a partir de esta la figura 10 con la cual observa la correlación entre la concentración del extracto y su equivalente de trolox expresado en mM; en este caso se reporta que 6,45mg

del extracto poseen una capacidad antioxidante equivalente a 1mM de trolox por el método de FRAP, en el cual se basa en el mecanismo de transferencia de electrones libres. En la tabla 8 y figura 12, se aprecia el comportamiento del trolox utilizado como patrón por el método ABTS, el cual responde a ambos mecanismos de acción conocidos de los antioxidantes pero priorizando el SET, del gráfico 12 obtenemos la ecuación de la curva que nos permite hallar el TEAC respectivo para las diversas soluciones del extracto preparado (tabla 9), según la figura 13 muestran los resultados de la determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico por el método del radical libre ABTS, donde se obtuvo que un valor de 20,5 mg/mL equivalente a 1mM de trolox. Por lo tanto se hacemos una comparación de la sensibilidad de los métodos podemos indicar que el extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *Grindelia tarapacana* Phill es más activo por el método FRAP, ya que con menor cantidad de extracto se obtiene una actividad equivalente a 1 mM de trolox..

V. CONCLUSION.

En el desarrollo del estudio titulado Actividad Antioxidante del Extracto Etanólico de las Partes Aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri” concluimos:

- El extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri” presento una considerable capacidad antioxidante.
- Los principales grupos de componentes químicos presentes en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri” fueron flavonoides, triterpenos/ esteroides y alcaloides.
- La actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri” por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP equivalente al 1mM de trolox fue de 20,5mg/mL, 15,9mg/mL y 6,45 mg/mL respectivamente.
- El método antioxidante que presento mayor actividad en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana* Phil “chiri-chiri”, fue el método del FRAP .

VI. RECOMENDACIONES.

Visto la diversidad de metabolitos secundarios que presentado en la especie y considerando que estos pueden depender de la zona de origen se recomienda estudios complementarios como:

- Efectuar extractos con otros tipos de solventes y la respectiva determinación de polifenólicos totales y compuestos flavonoides en dichos extractos.
- Determinación de la actividad antioxidante in vitro por otros métodos o in vivo.
- Determinación posibles actividades farmacológicas atribuidas por la medicina tradicional.
- Determinación de compuestos minerales macro o micro nutrientes presentes en el extracto

VII. FUENTES DE INFORMACION.

1. Santiváñez-Acosta RM, Cabrera-Meléndez JL. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2019 Disponible en: <https://repositorio.ins.gob.pe/handle/20.500.14196/1547>
2. Rengifo Zumaeta, Alex, Perry Dávila, Goldis, Tuisima Coral, Lady Laura, Noriega Silva, Rosmery Elizabeth Amalia, & Panduro Rengifo, Lener Omar. Análisis de las políticas para la conservación de la biodiversidad en el Perú. *Revista Estudios del Desarrollo Social: Cuba y América Latina*, (2023). 11(3), . Epub 01 de diciembre de 2023. Recuperado en 17 de mayo de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-01322023000300014&lng=es&tlng=e
3. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Organización Mundial de la Salud, 2013. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf
4. Anderson Robert A. Medicina integrativa. Segunda Edición, Capitulo 103 – Prescripción de antioxidantes, Elsevier España, 2009, ISBN 9788445819111, <https://doi.org/10.1016/B978-84-458-1911-1.50103-2>.
5. Yu-Jie Zhang, Ren-You Gan, Sha Li, Yue Zhou, An-Na Li, Dong-Ping Xu and Hua-Bin Li. Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and treatment of Chronic Diseases. *Molecules* 2015, 20, 21138-21156; doi: 10.3390/molecules 201219753
6. Guija-Guerra Henry, Guija-Poma Emilio. Radicales libres y sistema antioxidante. *Horiz. Med.* [Internet]. 2023 Abr [citado 2024 Mayo 17] ; 23(2): e2158. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2023000200013&lng=es
7. Venéreo Gutiérrez Justo R.. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Mil* [Internet]. 2002 Jun [citado 2024 enero 17] ; 31(2): 126-133. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009&lng=es.
8. Granda A, Bartoli A, Tortosa R. Una variedad de *Grindella tarapacana* (Asteraceae, Astereae) de Perú. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 35 (1-2): 157-159. 2000
9. Albani, C. M., Borgo, J., Fabbri, J., Pensel, P., Paladini, A., Beer, M. F., Laurella, L., Elso, O., Farias, N., Elissondo, N., Gambino, G., Sulsen, V., & Elissondo, M. C. (2022). Antiparasitic Effects of Asteraceae Species Extracts on *Echinococcus granulosus* s.s. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2022, 6371849. <https://doi.org/10.1155/2022/6371849>

10. Murguis, V., Ciprandi, G., Votto, M., De Filippo, M., Tosca, M. A., & Marseglia, G. L. (2021). Natural remedies for acute post-viral cough in children. *Allergologia et immunopathologia*, 49(3), 173-184. <https://doi.org/10.15586/aei.v49i3.71>
11. Gierlikowska, B., Filipek, A., Gierlikowski, W., Kania, D., Stefanska, J., Demkow, U., & Kiss, A. K. (2021). *Grindelia squarrosa* Extract and Grindelic Acid Modulate Pro-inflammatory Functions of respiratory Epithelium and Human Macrophages. *Frontiers in pharmacology*, 11, 534111. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.534111>
12. Gierlikowska, B., Gierlikowski, W., Bekier, K., Skalicka-Wozniak, K., Czerwinska, M. E., & Kiss, A. K. (2020). Inula helenium and Grindelia squarrosa as a source of compounds with anti-inflammatory activity in human neutrophils and cultured human respiratory epithelium. *Journal of ethnopharmacology*, 249, 112311. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112311>
13. Veres, K., Roza, O., Laczkó-Zold, E., & Hohmann, J. (2014). Chemical composition of essential oils of *Grindelia squarrosa* and *G. hirsutula*. *Natural product communications*, 9(4), 573-574.
14. Coronado H Marta, Vega y León Salvador, Gutiérrez T Rey, Vázquez F Marcela, Radilla V Claudia. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev. chil. nutr.* [Internet]. 2015 Jun [citado 2024 Mayo 18] ; 42(2): 206-212. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182015000200014&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>.
15. Jayo Pacheco J. Determinación de la actividad citotóxica y citostática del extracto etanólico obtenido de la raíz de *Grindelia tarapacana* Phil. “Escobita”. Tesis Universidad Nacional San Luis Gonzaga 2015.
16. Londoño Londoño, Julio “Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad”. 2012; 9: p.129-162.
17. Magdalena Pisoschi Aurelia Pop, Aneta Cimpeanu Carmen and Predoi Gabriel. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. Hindawi Publishing Corporation *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2016, Article ID 9130976, 36 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9130976>.
18. Castañeda B, Ramos E, Ibañez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas”. *Revista Horizonte Médico*. 2008 Julio; 8(1): p. 56-72
19. Sienes Bailo P, Llorente Martín E, Calmarza P, Montolio Breva S, Bravo Gómez A, Pozo Giráldez A, Sánchez-Pascuala Callau JJ, Vaquer Santamaría JM, Dayaldasani Khialani A, Cerdá Micó C, Camps Andreu J, Sáez Tormo G, Fort Gallifa I. Implicación del estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas y posibles terapias

- antioxidantes. *Adv Lab Med.* 2022 Dec 22;3(4):351–60. Spanish. doi: 10.1515/almed-2022-0022. PMID: PMC10197511.
20. Carvajal Carvajal Carlos. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Med. leg. Costa Rica* [Internet]. 2019 Mar [cited 2024 May 18]; 36(1): 91-100. Available from: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100091&lng=en.
 21. Lozano-Picazo, C.; Fernández-Belda, F. Especies reactivas de oxígeno y su implicación en biomedicina. *AN. VET. (MURCIA)*26 (2018): 34: 17-
 22. Hernández-Sampieri Roberto, Mendoza Torres Christian Paulina. *Metodología de la Investigación: Las Rutas Cuantitativa, Cualitativa y Mixta*. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana Editores. 2018. ISBN: 978-1-4562-6096-5
 23. Lock de Ugaz, O. (2016). *Investigación Fitoquímica, Métodos en el Estudio de Productos Naturales* (Tercera ed.). Lima, Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
 24. Sharapin Nikolai, et al. (2000). *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Santafé de Bogotá, Colombia: Convenio Andrés Bello.
 25. AOAC. *Methoda Officials of Analysis* 19 Ed. Filadelfia EEUU 2016
 26. Brand-Williams W., Cuvelier ME, Berset C. “Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity”. *LWT-Food Science and Technology*. 1994; 28(1): p. 25-30
 27. Benzie I., Strain J. “The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay”. *Analytical Biochemistry*. 1996 Julio; 239 (1): p. 70-76
 28. Gruszycki Mabel Rosalía, Valenzuela Gabriela Malena, Báez Margarita, Leguiza Pedro Daniel, et al. Evaluación de la actividad antioxidante en extractos hidroalcohólicos de *Portulaca oleracea* L. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 2019: Vol. 48(2), 425-435. / <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n2.82720>
 29. Wollenweber E, Timmermann B, Strand J, Fuentes E. Exudate Flavonoids from *Grindelia tarapacana* of Chile. *Z. Naturforsch.* 1993, 48c, 533-534. Disponible en: file:///C:/Users/Cecilia/Downloads/10.1515_znc-1993-5-623.pdf
 30. Zhoe Lin. *Bioactive agents from Grindelia tarapacana* Phil. (Asteraceae). Editorial The University of Arizona. 1994
 31. Schepetkin, I.A.; Özek, G.; Özek, T.; Kirpotina, L.N.; Khlebnikov, A.I.; Quinn, M.T. Neutrophil Immunomodulatory Activity of (–)-Borneol, a Major Component of Essential Oils Extracted from *Grindelia squarrosa*. *Molecules* **2022**, *27*, 4897. <https://doi.org/10.3390/molecules27154897>

VIII. ANEXOS

8.1 Fotos



Figura 15. Muestra vegetal de Chiri-Chiri



Figura 16. Selección de la muestra vegetal



Figura 17. Secado de la muestra vegetal



Figura 18. Fragmentación de la muestra vegetal.



Figura 19. Muestra vegetal lista para almacenamiento y posterior tratamiento



Figura 20. Determinación de pH para caracterizar al extracto etanolico de la especie



Figura 21. Pesado para la determinación de humedad y colocando para cenizas



Figura 22. Pesado muestra y reactivos para la determinación de la actividad antioxidante



Figura 23. Disolviendo el extracto en el baño ultrasonido



Figura 24. Preparando diluciones de la muestra para actividad antioxidante



Figura 25. Reacción del reactivo FRAP para la determinación de actividad antioxidante



Figura 26. Realizando la lectura en el espectrofotómetro



Figura 27. Colocando las muestras de cenizas en la campana desecadora

8.2 Figura 23. Certificación botánica de la especie



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N°454 -USM-2019

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa), recibida de **Luis del Piero Muchaypiña Rojas y Angela Fiorella Mateo Pacheco**; estudiantes de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; ha sido estudiada y clasificada como ***Grindelia tarapacana Phil.***; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: *Grindelia*

ESPECIE: *Grindelia tarapacana Phil.*


Nombre vulgar: "chiri chiri"

Determinado por: Mag. Hamilton Wilmer Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 18 de diciembre de 2019




Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb