

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad
antioxidante del extracto atomizado de las hojas de
Mutisia mathewsii Hook & Arn. “chinchilcuma”,
Ayacucho - 2018.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICA

Presentado por:
Bach. CONDOLI ROMANÍ, Ruth Elvira

AYACUCHO – PERÚ
2019

A Dios, ya que gracias a él he logrado concluir mi carrera y a mis padres porque ellos siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo para hacer de mí una mejor persona.

AGRADECIMIENTOS

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales, por haberme acogido durante cinco años y darme lo necesario para mi vida profesional, y de esta manera retribuir en la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y en especial a los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica quienes compartieron sus conocimientos y experiencias durante mi formación profesional.

A mi asesor, Mg. Q.F. Aronés Jara, Marco Rolando docente adscrito al Departamento Académico de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias de la Salud, por su apoyo permanente en el desarrollo del presente trabajo de investigación y al Mg. Q.F. Luna Molero, Hugo Roberto y Mg. Q.F. Cárdenas Landeo, Edgar por su revisión metodológica y sus análisis crítico de los resultados.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Mutisia mathewsii</i> Hook. & Arn. “chinchilcuma”	4
2.2.1. Clasificación taxonómica <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”	4
2.2.2. Descripción botánica de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”	4
2.2.3. Distribución y Habitatad	5
2.2.4. Usos	5
2.3. Antioxidantes	5
2.3.1. Antioxidante dietético	5
2.3.2. Sistema de defensa antioxidante	6
2.3.3. Radicales libres	7
2.3.4. Estrés oxidativo	8
2.4. Compuestos fenólicos	8
2.4.1. Flavonoides	9
2.5. Medición de la actividad antioxidante	9
2.5.1. Método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)	10
2.5.2. Método ABTS [del ácido 2,2´ azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)]	11
2.5.3. Método FRAP (Poder de reducción antioxidante del hierro)	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	13
3.2. Definición de población y muestra	13
3.2.1. Población	13
3.2.2. Muestra	13
3.2.3. Sistema de muestreo	13
3.3. Metodología y recolección de datos	13

3.3.1. Recolección de la muestra	13
3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico	14
3.3.3. Obtención del extracto atomizado	14
3.3.4. Identificación de compuestos químicos del extracto atomizado	14
3.3.5. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del atomizado	14
3.3.6. Determinación de fenoles totales	15
3.3.7. Determinación de flavonoides totales	16
3.3.8. Determinación de la capacidad antioxidantes según el método 1,1-difenil-2-picril-hidracilo (DPPH)	17
3.3.9. Determinación de la actividad antioxidante según el método ácido 2,2´azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS)	18
3.3.10. Determinación de actividad antioxidante según el método FRAP (Poder de reducción antioxidante del hierro)	19
3.4. Análisis de datos	20
3.4.1. Tipo de investigación	20
3.4.2. Diseño de investigación	20
3.5. Tipo y diseño de investigación	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	31
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción	7
Tabla 2. Clasificación de los antioxidantes según su origen	7
Tabla 3. Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción ET	9
Tabla 4. Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción HAT	10
Tabla 5. Características fisicoquímicas del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018	23
Tabla 6. Identificación de metabolitos secundarios en el extracto de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.	24

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH)	10
Figura 2. Mecanismo de reacción para el ensayo ABTS	11
Figura 3. Reacción involucrada en el ensayo FRAP	12
Figura 4. Contenido de fenoles totales y flavonoides en extractos atomizados de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018	25
Figura 5. Porcentaje de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018	26
Figura 6. Porcentaje de actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.	27
Figura 7. Porcentaje de actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.	28
Figura 8. Concentración media inhibitoria (IC ₅₀) de la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.	29

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de la clasificación taxonómica de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.	47
Anexo 2. Fotografía de la especie <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.	48
Anexo 3. Fotografía en el área de atomizado del laboratorio del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2018.	49
Anexo 4. Fotografía de los resultados de la marcha fitoquímica del extracto de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.	50
Anexo 5. Fotografía de los resultados de la cuantificación de fenoles y flavonoides del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018	51
Anexo 6. Fotografía de la cuantificación de la actividad antioxidante según el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018	52
Anexo 7. Cuadro de análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018	53
Anexo 8. Cuadro de comparación múltiple de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018	54
Anexo 9. Cuadro de análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018	55
Anexo 10. Cuadro de comparación múltiple de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de ATBS del extracto	56

	atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018	
Anexo 11.	Cuadro de análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018	57
Anexo 12.	Cuadro de comparación múltiple de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de ATBS del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018	58
Anexo 13.	Cuadro de prueba de Levene de igualdad de varianzas del IC ₅₀ mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018	59
Anexo 14.	Cuadro de prueba de Levene de igualdad de varianzas del IC ₅₀ mediante la captación del radical ABTS del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018	60
Anexo 15.	Cuadro de prueba de Levene de igualdad de varianzas del IC ₅₀ mediante la captación del radical FRAP del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018	61
Anexo 16.	Cuadro de porcentajes de la actividad antioxidante según el método de DPPH del trolox y el extracto de las hojas de extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018	62
Anexo 17.	Cuadros de porcentajes de la actividad antioxidante según el método de ABTS del trolox y el extracto de las hojas de extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018	63
Anexo 18.	Cuadros de porcentajes de la actividad antioxidante según el método de FRAP del trolox y el extracto de las hojas de extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018	64
Anexo 19.	Matriz de consistencia	65

RESUMEN

El presente trabajo de investigación básico – descriptivo se ejecutó en el laboratorio del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, y se realizó con el objetivo de determinar la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”; desarrollándose durante los meses de junio del 2018 a noviembre del 2018. La muestra fue recolectada en el Centro Poblado de Waraca anexo Anchac – Huasi del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. La fracción aislada se obtuvo por extracción hidroalcohólica en el percolador y se concentró en baño maría para reducir el grado alcohólico, seguidamente se realizó el secado por atomización. Se evaluó sus características organolépticas y fisicoquímicas del extracto atomizado. Los resultados muestran que es muy soluble en agua, pH igual a 4,64; humedad 3.36%; cenizas 6.46%; olor *suigéneris*; sabor amargo; color beige y de aspecto polvo fino. Se sometió a un tamizaje fitoquímico y los metabolitos secundarios principales hallados fueron: esteroides, flavonoides y taninos. Se realizó la cuantificación de fenoles y flavonoides mediante el método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu y cloruro de aluminio respectivamente; encontrándose 263,3 mg de fenoles totales equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto atomizado (EAG/g EA) y 171,3 mg de flavonoides totales equivalentes de rutina por gramo de extracto atomizado (ERu/g EA). La actividad antioxidante se determinó mediante el ensayo de captación del radical libre: DPPH, ABTS Y FRAP. En el método DPPH el porcentaje de actividad antioxidante que se obtuvo a concentraciones de 25, 50 y 100 µg/mL fue de 7,42%; 12,77% y 26,19%; en el método ABTS a concentraciones de 150, 200 y 250 µg/mL fue de 22,90%; 41,12% y 53,24% y en el método FRAP a concentraciones de 25, 50 y 100 µg/mL fue de 28,25%; 48,71% y 65,51%. La concentración media inhibitoria (IC₅₀) del extracto atomizado sobre el radical DPPH, ABTS Y FRAP fue de 228,8 µg/mL; 246,3 µg/mL; 56,5 µg/mL respectivamente. Concluyéndose que el extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma” presenta actividad antioxidante significativamente menor al estándar Trolox.

Palabras claves: Fenoles totales, flavonoides, actividad antioxidante.

I. INTRODUCCIÓN

Mutisia mathewsii Hook & Arn. “chinchilcuma” originaria de América del sur, crece en diversas regiones de Perú y Bolivia. Particularmente crece en los Andes de Ayacucho, Junín y Lima. Es una especie vegetal que pertenece a la categoría social usada por los pobladores contra la brujería, la envidia, para conseguir trabajo, para la buena suerte, para el amor y como uso medicinal para el tratamiento empírico del dolor de estómago y contra la tos^{1,2}. Es de gran importancia trabajar en el campo de la investigación de productos vegetales para demostrar la eficacia de su empleo con los métodos científicos ya validados y encontrar su uso adecuado. Son muchos los trabajos que se hacen sobre las plantas que tienen valor terapéutico demostrado en el uso popular y que inclusive tienen mayor eficacia que los compuestos sintetizados, por eso la importancia que tienen el estudio de estas plantas para demostrar científicamente su valor terapéutico y difundir su uso. Las enfermedades degenerativas son las principales causas de muerte en el mundo que se asocian regularmente con la edad, el envejecimiento, la alimentación y entre otros factores. Dentro de este grupo de enfermedades cabe resaltar las que son un problema de salud pública como la hipertensión arterial, enfermedades cardiovasculares, diabetes Mellitus, el cáncer; y que muchas de estas enfermedades están asociados a procesos oxidativos que pueden llevar a la muerte celular³. Hoy en día se trabaja en el descubrimiento de nuevas alternativas, una de ellas es el empleo de las plantas medicinales que constituyen una de las formas más antiguas de tratamiento y que se usa muy frecuentemente. En los últimos años se ha revalorado el uso de las plantas medicinales con fines terapéuticos para mejorar el problema de la salud. Por lo expuesto, anteriormente y rescatando la información tradicional de las plantas medicinales con el fin de hacer posible su integración a la medicina científica. Se busca que el extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii*

Hook. & Arn. "chinchilcuma", sirva como alternativa medicamentosa para el tratamiento de enfermedades ya mencionadas y por qué no para otras enfermedades de interés público.

Por tal motivo, se planteó el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Determinar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook. & Arn. "chinchilcuma", Ayacucho 2018.

Objetivos específicos:

1. Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de de *Mutisia mathewsii* Hook. & Arn. "chinchilcuma".
2. Determinar la composición fitoquímica de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook. & Arn. "chinchilcuma".
3. Cuantificar fenoles totales y flavonoides del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook. & Arn. "chinchilcuma".
4. Determinar la actividad antirradical del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook. & Arn. "chinchilcuma", mediante los métodos de DPPH, ABTS Y FRAP.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Hasta la actualidad no se ha encontrado ningún trabajo de investigación farmacológico ni químico de la especie *Mutisia mathewsii* Hook & Arn., pero si se han reportado estudios sobre algunas especies de la misma familia.

Mujica⁴, realizó un estudio descriptivo “*in vitro*” del extracto de las hojas y flores de *Mutisia acuminata* R. & P. con solventes de diferente polaridad, determinando que las fracciones aisladas tienen actividad secuestradora del radical libre DPPH superior al 50%; y así concluyendo que las hojas y frutos tienen actividad antioxidante, siendo la fracción de acetato de etilo la que presento los metabolitos secundarios con mayor actividad antioxidante.

Borja⁵, evaluó el efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia acuminata* R. & P, induciendo úlcera gástrica con naproxeno en el estómago de ratas, demostrando que el tratamiento con mayor eficacia gastroprotector fue el extracto hidroalcohólico de las hojas de 400 mg/kg y 600 mg/kg; observándose el 79 y 76% de inhibición en los análisis macroscópicos (escala de Marhuenda) y análisis histológico (patológico) de cada muestra.

Fortuna⁶, evaluó la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas frescas de *Mutisia acuminata* R. & P. en cerebros y cerebelos de 20 ratas, por administración intragástrica y, en dosis única, diferentes volúmenes del extracto, según peso corporal para la prueba de letalidad (5000mg/kg, DL₅₀). Los animales de experimentación permanecieron en observación por 14 días, al término de los cuales no se detectó signos de toxicidad ni alteración de la curva de crecimiento de la especie ni muerte de ningún animal. El día 15 se realizó la eutanasia y se extirpo los órganos encefálicos para realizar el análisis anatomopatológicos de los tejidos de cerebros y cerebelos, en las que no se hallaron lesiones macroscópicas. En las observaciones microscópicas se encontraron edemas leves, moderados y severos; congestiones leves y fuertes. Concluyéndose que el

extracto hidroalcohólico de la especie botánica evaluada a 5000mg/kg es “prácticamente no toxica”.

Abarca⁷, en un estudio realizado en el extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Mutisia acuminata* R. & P. “Chinchilcuma” se reporta que el extracto a una dosis de 150 mg/kg posee mayor efecto contra la hiperplasia benigna en un 38,5% comparado con finasteride 5 mg/kg que obtuvo 36,5 % y cefasabal® 25 mg/kg, 32,7%. Al realizarse el análisis bioquímico: fosfatasa ácida se obtuvo una disminución en el resultado del grupo tratado con extracto de 150 mg/kg (0,014 ng/dL) a comparación del grupo con hiperplasia benigna prostática (0,017 ng/dL); en los análisis inmunológicos: testosterona libre se obtuvo para al grupo tratado con extracto de 150 mg/kg 0,9 pg/dL a comparación del grupo con hiperplasia benigna prostática 1,0 ng/dL; en el antígeno específico prostático libre (PSAL) el grupo tratado con extracto de 150 mg/kg obtuvo 0,005 ng/dL a comparación del grupo con HBP donde el resultado fue 0,008 ng/dL.

2.2. *Mutisia mathewsii* Hook. & Arn. “chinchilcuma”

2.2.1. Clasificación taxonómica *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”

Clasificación taxonómica según el sistema de clasificación de Cronquist A.

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub Clase	: Asteridae
Orden	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Género	: <i>Mutisia</i>
Especie	: <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.
Nombre Vulgar	: “chinchilcuma”

Fuente: constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

2.2.2. Descripción botánica de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”

Es una planta arbustiva trepadora andina que mide aproximadamente 2,5-3,0 m de altura, hojas alternas, simples, sésiles, lineales lineal-lanceolada 50-80 x 1,5-2,5 cm de alto por 2 cm de diámetro; involucre de 12-23 mm de alto por 13-25 mm de diámetro, brácteas involucrales pluriseriadas numerosas 8-10 series, las exteriores lineales gradualmente más pequeñas que las inferiores elíptico-lanceoladas. Flores marginales liguliformes, femeninas amarillo-rojizas, corola

bilabiada, labio externo bien desarrollado y labio interno pequeño filiforme inconspicuo, flores del disco amarillas, hermafroditas, bilabiadas, labio externo trífido, labio interno bífido, anteras apendiculares en el ápice, sagitadas en la base. Pappus plumoso, con pelos numerosos tan largos como la corola. Aquenio cilíndrico y glabro⁸.

2.2.3. Distribución y Habitat

Se distribuye en vegetaciones de matorral subhúmedo (2850 – 3400 m.s.n.m.) y matorral húmedo (3400 – 3900 m.s.n.m.), crece en forma silvestre en presencia de cerros, quebradas, pequeños riachuelos y abundante vegetación arbustiva.¹

Habitad.- Puna en bosque de *polylepis* (quinual)⁸.

2.2.4. Usos

La planta *Mutisia mathewsii* Hook & Arn., llamadas comúnmente como: “chinchilcuma”, “siete sabios”, “mancharisa”, “chinchircoma mayu” (Bolivia).

Utilizada para el tratamiento de las enfermedades culturales como “aya wayra”, “susto”, “aya tullu”, “mal aire”, “qayqa”, entre otras; se da a través de baños líquidos o de vapor de la decocción de las ramas¹. En Bolivia es utilizada para el tratamiento de la tos y el dolor de estómago a través de la infusión de las flores².

2.3. Antioxidantes

Es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones en la sangre, los que son captados por los radicales libres⁹. Sustancia que encontrándose a concentraciones bajas respecto a la de un sustrato oxidable, actúa antes o durante una reacción en cadena de los radicales libres, ya sea en la etapa de iniciación, propagación, terminación, descomposición o en oxidación de los productos¹⁰.

La función antioxidante se asocia al proceso de óxido-reducción que consigna dos momentos básicos: a) oxidación que implica pérdida de electrones de hidrógeno con la ganancia de oxígeno en la molécula, b) reducción que significa ganancia de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno. Así el oxidante se reduce al reaccionar con aquella molécula que oxida. Este proceso es cotidiano en el organismo humano y representa el conocido par óxido-reductor¹³.

Dentro de las sustancias antioxidantes se encuentran los compuestos fenólicos, éstos asociados al color, a las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), características nutritivas de los alimentos de origen vegetal¹¹.

2.3.1. Antioxidante dietético

Sustancia que forma parte de los alimentos de consumo diario y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones

fisiológicas normales de los humanos. Las propiedades antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico-biológico, sino también por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos. Se utilizan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa (grasas)¹³.

2.3.2. Sistema de defensa antioxidante

El sistema de defensa antioxidante está formado por un grupo de sustancias que al estar presente en bajas concentraciones con respecto al sustrato oxidable, pueden retrasar o previenen significativamente la oxidación de esta¹⁴. Estos mecanismos son adecuados a la muy corta vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante⁹.

Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas e inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, hidratos de carbono y las moléculas de ADN. Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente (membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular). La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia entereza molecular para evitar alteraciones de moléculas (lípidos, proteínas, ADN, etc.) funcionalmente más importantes y vitales. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos. Actúan como eliminadoras (Scavengers), con el propósito de mantener el equilibrio pro-oxidante/antioxidante a favor de los antioxidantes. Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser asiduo, mediante el consumo de los nutrientes que los contienen¹⁴.

Tabla 1. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción¹⁴.

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

Tabla 2. Clasificación de los antioxidantes según su origen¹⁴.

Origen	Acción
1. Exógenos	- Neutraliza el oxígeno singlete
Vitamina E	- Captura radicales libres hidroxilo
Vitamina C	- Captura O ₂
Betacarotenos	- Neutraliza peróxidos
Flavonoides, Licopenos	- Neutraliza el oxígeno singlete
	- Captura radicales libres de hidroxilo
	- Captura O ₂
	- Regenera la forma oxidada de la vitamina E
	- Neutraliza el oxígeno singlete
2. Endógenos	Cofactor
Enzimáticos	Cobre, sodio, manganeso
Superóxido dismutasa (SOD)	
Catalasa (CAT)	Hierro
Glutación peroxidasa (GPx)	Selenio
3. No enzimáticos	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células
Glutación	
Coenzima Q	Ácido Tioctico
Ácido Tioctico	Transportadores de metales (transferrina y ceruloplasmina)

2.3.3. Radicales libres

Los radicales libres desde un punto de vista químico son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad, señalado por el punto situado a la

derecha del símbolo¹⁴. Son altamente reactivas y clave para formar otros radicales libres en cadena, además por la vida media que es de microsegundos, ocurre una rápida propagación con moléculas cercanas y mayor daño potencial. De hecho un radical libre puede afectar 1 millón de moléculas durante la reacción en cadena. Los compuestos en cuestión forman parte de los llamados especies reactivas del oxígeno (ERO) o ROS (Reactive Oxygen Species). Los radicales libres se liberan durante el metabolismo humano, y también se forman por contaminantes ambientales, (atmosféricos, acuáticos, de suelos), radiaciones (ultravioleta, gamma, hertziana), entre otros. Se pueden relacionar con el consumo o uso de tóxicos como el alcohol, tabaco y drogas o debido a una alimentación no adecuada, exposición a fertilizantes o pesticidas. Se incluye además el metabolismo de algunos químicos y elevado estrés físico o psíquico¹³.

2.3.4. Estrés oxidativo

El daño o estrés oxidativo se define como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores pro-oxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno¹⁴. Cuando el aumento del contenido intracelular de ERO sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce el estrés oxidativo, a través del cual se induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El estrés oxidativo se presenta en diversos estados patológicos en los cuales se altera la funcionalidad celular, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer⁹.

2.4. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un grupo considerable de compuestos que pueden definirse, de una forma precisa 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 (estos grupos funcionales pueden ser reemplazados por ésteres, metil-éster, glicósidos, etc.), aunque una definición más concisa se basa en su origen metabólico como aquellas sustancias derivadas del metabolismo de la ruta del shikímico y de los fenilpropanoide¹⁵.

2.4.1. Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no produce estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse a través de una alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos con excelentes propiedades antioxidantes¹⁶.

2.5. Medición de la actividad antioxidante

Existen muchos métodos para medir la capacidad antioxidante de los compuestos, los que se clasifican en dos categorías: La primera, mide la inhibición de la oxidación en un sistema modelo por monitoreo a los cambios asociados utilizando medios físicos, químicos o instrumentales. La segunda, se relaciona a los ensayos captadores de radicales, los cuales incluyen métodos basados en mecanismos de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) o transferencia de electrones (ET). Los ensayos ORAC (capacidad de absorber radicales oxígeno) y TRAP (parámetro antioxidante que atrapan los radicales totales), son los mejores métodos utilizados para medir el HAT. Los ensayos TEAC (capacidad antioxidante equivalente a Trolox), FRAP (poder antioxidante reductor férrico) y el DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) representan a los métodos basados en ET¹⁷.

Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET).

Tabla 3. Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción ET¹⁷.

ENSAYO	CATEGORÍA
Ácido 2,2'azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS⁺)	
1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP)	
N, N- dimetil-p- fenilendiamina (DMPB)	
Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	

Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)

Tabla 4. Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción HAT¹⁷.

ENSAYO	CATEGORÍA
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)
Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP)	
Inhibición de la oxidación del ácido linoleico	
Inhibición de la oxidación de los lípidos de baja densidad (LDL)	

2.5.1. Método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

El método DPPH es el método de neutralización del radical libre 1,1-difenil-2-dipicril-hidrazilo. El radical libre y estable DPPH, es una sustancia que mide la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante. Este método es utilizado para sustancias liposolubles o hidrosolubles^{11,18}.

La solución del reactivo de DPPH es de color violeta y con una absorción de 515 nm. La reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (antioxidante) por el radical libre DPPH, desarrollando un cambio del color violeta a amarillo, al disminuir la concentración del radical libre. El grado de este decoloramiento indica la pericia del antioxidante de secuestrar al radical libre; el que se lee en el espectrofotómetro después de veinte a treinta minutos de reacción^{11,17}.

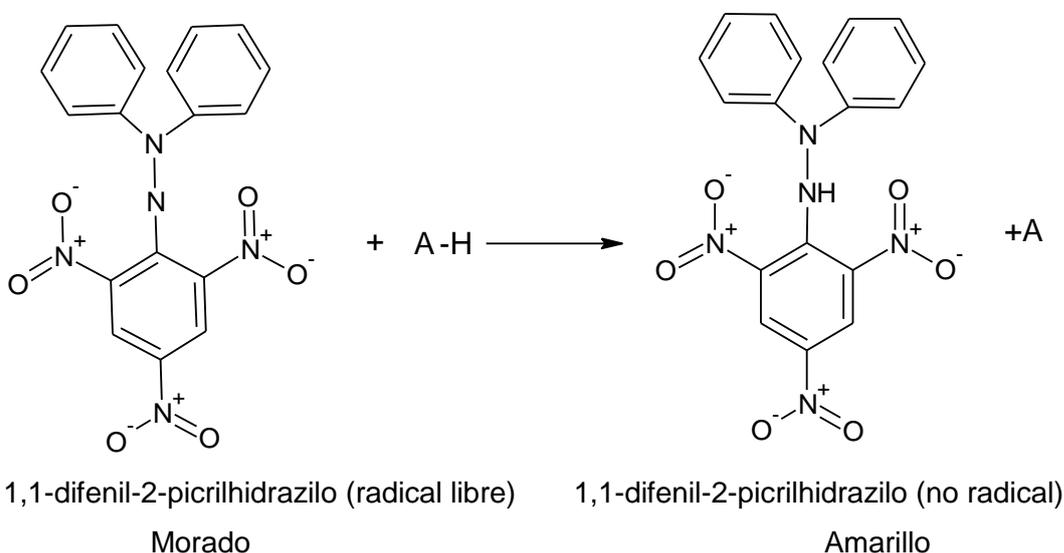


Figura 1. Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH)^{12,19}

El dato se expresa normalmente como valor IC₅₀, es decir, la concentración del antioxidante necesaria para inhibir el 50% de los radicales DPPH en un periodo de tiempo determinado¹⁸.

2.5.2. Método ABTS [del ácido 2,2' azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)]

El método ABTS consiste en la capacidad de captura que tiene el anión radical $ABTS^{0+}$ [del ácido 2,2' azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] de vida larga. El $ABTS^{0+}$ es oxidado por los radicales peroxilo u otros oxidantes a su forma de radical catión $ABTS^{0+}$ de color intenso. La capacidad antioxidante de los compuestos de prueba se mide como inhibición óptica complementaria a la absorbancia (disminución del color), al reaccionar directamente con el radical $ABTS^{0+}$.

El método permite expresar los resultados de acuerdo a la capacidad del antioxidante para donar un hidrogeno y estabilizar al radical $ABTS^{0+}$. La decoloración que la solución de ABTS experimenta en la reacción, se compara con la decoloración hecha por un antioxidante patrón derivado de la vitamina E conocido como Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-acido carboxílico), mediante una curva de calibración¹⁸.

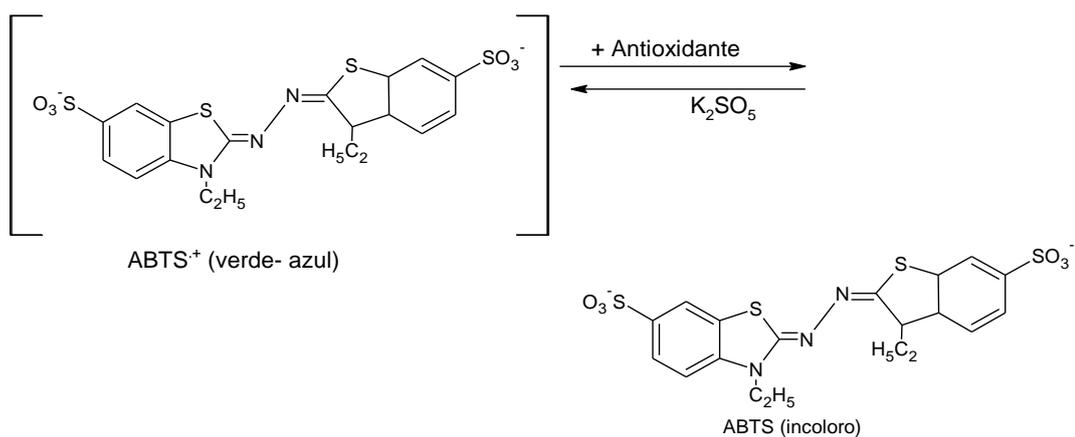


Figura 2. Mecanismo de reacción para el ensayo $ABTS^{21}$.

2.5.3. Método FRAP (Poder de reducción antioxidante del hierro)

Consiste en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe^{3+} a Fe^{2+} que es menos antioxidante. El complejo férrico-2,4,6-tripiridel-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado. Se mide la densidad óptica (DO) del Fe^{2+} . Así, cuanto más antioxidante es la sustancia objeto de estudio, mayor es la reducción y mayor concentración de Fe^{2+} y más alta la señal de absorbancia. El complejo será reducido por productos con potenciales redox menores a 0.7 V (potencial redox del Fe^{3+} - TPTZ)²².

Debido a que el potencial redox del Fe^{3+} - TPTZ es comparable con el del ABTS se pueden analizar compuestos similares con ambos métodos, aunque las condiciones de la reacción sean diferentes. El mecanismo del FRAP es de

transferencia de electrones, a diferencia de otros métodos donde se produce captura de radicales libres, según esto, el FRAP puede ser útil, en combinación con otros métodos, en la determinación de la capacidad antioxidante de productos que contengan distintos tipos de antioxidantes²².

La reacción mide la reducción del complejo férrico-2,4,6,tripiridil-s-triazina (TPTZ), en la cual el hierro férrico (Fe^{3+} - TPTZ) se reduce a ión ferroso a bajo pH, formando un complejo ferroso-tripiridiltriiazina coloreado (Fe^{2+} -TPTZ), que se absorbe a una longitud de onda de 593 nm^{21,23}.

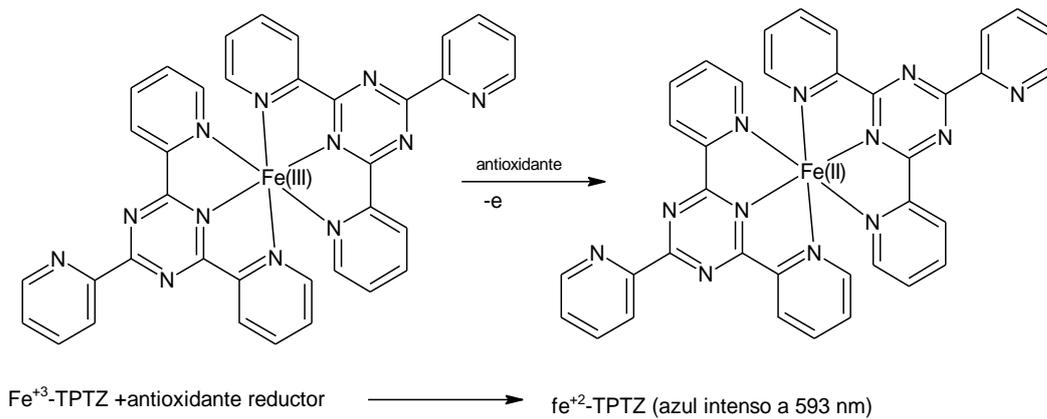


Figura 3. Reacción involucrada en el ensayo FRAP^{21,23}.

El patrón utilizado para comparar los resultados será el Trolox.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

2.6. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el laboratorio del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, del departamento de Ayacucho, durante los meses de junio a noviembre del 2018.

2.7. Definición de población y muestra

2.7.1. Población

La población estuvo constituida por la especie *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”, que crecen en el centro poblado de Waraca anexo Anchac - Huasi, provincia de Vinchos del departamento de Ayacucho.

2.7.2. Muestra

1 kg de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”, recolectadas en el centro poblado de Waraca anexo Anchac - Huasi, provincia de Vinchos del departamento de Ayacucho, ubicado a una altura de 3 129 m.s.n.m.

2.7.3. Sistema de muestreo

Libre por conveniencia

2.8. Metodología y recolección de datos

2.8.1. Recolección de la muestra

La muestra *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma” se recolectó en estado de madurez en horas de la mañana y transportada en bolsas al laboratorio de Tecnología de productos naturales del CEDACMEF. Una parte se herborizó para su identificación botánica.

Las hojas fueron colocadas sobre papel bond, extendiéndose en una capa delgada, volteándose todos los días hasta lograr un secado uniforme.

2.8.2. Obtención del extracto hidroalcohólico

Luego del secado de las hojas se procedió a triturar la muestra utilizando el mortero, hasta obtener un polvo uniforme, obteniendo un triturado de 44.3110 g, luego se pesó 20 gramos de la muestra, el cual se llevó a macerar en un frasco de vidrio con 150 mL de alcohol de 70° (protegiéndose el frasco de la luz) por un periodo de 24 horas, en constante agitación. Después el macerado se llevó al percolador (previamente se acondicionó con algodón y papel filtro) y se dejó salir a razón de 40 gotas por minuto; seguidamente se agregó el solvente al percolador, el cual se dejó incubar durante 24 horas (procedimiento que se realizó repetidamente hasta obtener el último percolado) y posteriormente se filtró el extracto concentrado para evitar impurezas.

2.8.3. Obtención del extracto atomizado

Finalmente, el extracto concentrado se secó, utilizando el Atomizador Mini Spray Driver B-290 del CEDACMEF de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. El producto obtenido se envasó en un tubo con tapa rosca.

2.8.4. Identificación de compuestos químicos del extracto atomizado

La identificación de los diferentes compuestos químicos (metabolitos secundarios) del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma" fueron realizadas siguiendo los procedimientos de Fredy Pérez Azahuanche²⁴.

2.8.5. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del atomizado

Una vez obtenida el extracto atomizado, se evaluó los parámetros fisicoquímicos, que a continuación se señala²⁵.

a) Determinación de las características organolépticas

Color: Se tomó cantidad suficiente del extracto atomizado y se colocó en un tubo de ensayo, éste se colocó en un fondo blanco y se procedió a observar el color y determinar el tipo de color²⁷.

Sabor: Se tomó una cantidad suficiente y se colocó en una luna reloj, luego se hizo contacto con la lengua y determinar el tipo de sabor (dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc)²⁶.

Olor: se tomó el tubo de ensayo con el extracto atomizado y se procedió a olfatear percibiendo el olor característico²⁷.

Aspecto: se tomó cantidad suficiente del extracto y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto del atomizado²⁶.

b) Determinación de la solubilidad

Para determinar la solubilidad del extracto atomizado se pesó un gramo y se vació en un tubo de ensayo, el cual se adicionó 1 mL de disolvente (etanol, metanol, cloroformo, n-butil y agua), se agitó y se procedió a observar, en caso de no disolverse se aumentó el disolvente a 10 mL, así sucesivamente para 30 mL, 100 mL, 1 L y más de 10 L²⁸.

c) Determinación de pH

La medición del pH se llevó a cabo mediante el pH-metro, para ello se tomó una solución reguladora (buffer). Una vez vaciada la solución reguladora en un matraz, se colocó el equipo para su respectiva calibración y posteriormente se determinó el valor del pH del extracto²⁹.

d) Determinación del contenido de humedad

Se pesó 2 g de la muestra de ensayo con desviación permisible de 5 mg y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada, seguidamente se desecó a 105 °C durante tres horas. La cápsula se colocó en la desecadora donde se dejó enfriar a temperatura ambiente y seguidamente se pesó, luego se colocó nuevamente en la estufa durante una hora y volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante²⁹.

e) Determinación del contenido de cenizas

Se pesó no menos de 2 g ni más de 3 g de la muestra de ensayo, con una desviación permisible de 5 mg en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calentó suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en una mufla a una temperatura de 700 a 750°C durante dos horas. Se enfrió el crisol en una desecadora y se pesó, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 5 mg por g, para obtener la masa constante los intervalos entre calentamientos y pesada son de 30 minutos²⁹.

2.8.6. Determinación de fenoles totales

La determinación de contenido de fenoles totales se realizó mediante el método de espectrofotometría de Folin-Ciocalteu, para lo cual se usó ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia³⁰. Este método se fundamenta en su carácter reductor y seguida neutralización. Se basa en la mezcla de la muestra a analizar y el reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual tiene la capacidad de reaccionar con los compuestos polifenólicos, dando como resultado un cambio de coloración de amarillo a azul, y su intensidad depende del contenido de

fenoles presentes en la muestra. Seguidamente se mide esta coloración en el espectrofotómetro³¹.

Procedimiento

Se tomó 100 µg/mL de las muestras convenientemente diluidas, 500 µL del reactivo Folin – Ciocalteau 1:10, 400 µL de una solución de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 7,5%. Se mezcló en un tubo de ensayo y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda 765 nm utilizando espectrofotómetro. El contenido de fenoles totales fue expresado en miligramos de equivalentes de ácido gálico (EAG) por gramo de extracto atomizado, a partir de una curva de calibración del estándar ácido gálico de 10 a 60 µg/mL.

Cálculos

Se determinó el valor del contenido de fenoles totales realizando una regresión lineal con las absorbancias obtenidas, de tal manera que se obtiene la siguiente ecuación: $y = bx + a$, donde “a” es la intersección y “b” pendiente, para calcular el contenido de fenoles totales se debe reemplazar en el valor correspondiente en el eje “Y” (absorbancia) y en el eje “X” (concentración µg/mL), posteriormente fueron expresados como mgEAG/g de extracto atomizado.

2.8.7. Determinación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se determinó por el método de Gonzales³², empleando el reactivo de cloruro de aluminio (AlCl₃); utilizando la rutina como el compuesto flavonoide de referencia.

Procedimiento

Se preparó una solución madre de rutina, para ello se pesó 1 mg de rutina, y llevó a un matraz de 25 mL, se disolvió con 2,5 mL de metanol y se aforó a volumen con etanol de 70°.

A partir de la solución del extracto atomizado de hojas *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”, se tomaron alícuota de 2 mL y se transfirieron a un volumétrico de 5 mL, se adicionó a continuación 0,5 mL del reactivo de cloruro de aluminio (AlCl₃) al 2%. Se completó con alcohol de 70° hasta volumen. Después de 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, la absorbancia fue medida 415 nm. El contenido de flavonoides totales se calculó como equivalentes de rutina (mg de rutina/g MS) a partir de la curva de calibración de este compuesto.

La curva de calibración se trabajó en un intervalo de concentración de 8-32 µg/mL. Las evaluaciones de los extractos del atomizado de las hojas *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma", se realizó por triplicado.

Cálculos

Se determinó el valor del contenido de flavonoides realizando una regresión lineal con las absorbancias obtenidas, de tal manera que se obtiene la siguiente ecuación: $y = bx + a$, donde "a" es la intersección y "b" pendiente para calcular el contenido de flavonoides, se debe reemplazar en el valor correspondiente en el eje "Y" (absorbancia) y en el eje "X" (concentración µg/ml), posteriormente fueron expresados como mg ERu/g de extracto atomizado.

2.8.8. Determinación de la capacidad antioxidantes según el método 1,1-difenil-2-picril-hidracilo (DPPH)

Se realizó la evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante siguiendo el método DPPH⁴⁰.

Procedimiento

Se procedió a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en etanol 96° a una concentración de 40 mg/mL, se mantuvo refrigerado y protegido de la luz, se realizaron diluciones de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1 µg/mL. La curva de calibración se construyó a partir de los valores de absorbancia obtenidos a 515 nm de todas las soluciones (1 a 40 µg/mL), medidas en una cubeta de vidrio con el camino óptico de 1cm y teniendo como "blanco" el etanol.

El extracto de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma" y el control positivo (Trolox) en etanol 96°, fueron diluidos a concentraciones de 250, 200, 150, 100, 50 y 25 mg/mL. Las medidas de absorbancia de las mezclas de reacción (0,3 mL de solución de muestra y 2,7 mL de la solución madre de DPPH a la concentración de 40 µg/mL) se realizaron a 515 nm a 1, 5 y 10 minutos, cada 10 minutos hasta 1 hora. Se utilizó una mezcla de etanol (2,7 mL) y 0,3 mL del extracto como blanco.

Cálculo del porcentaje de actividad antioxidante (%AA)

Los valores de absorbancia a todas las concentraciones ensayadas se convertirán en porcentaje de actividad antioxidante, que será determinada por la ecuación:

$$\%AA = \frac{\{[Abs_{control} - (Abs_{muestra} - Abs_{blanco})]x100\}}{Abs_{control}}$$

Dónde:

A_{control} : Absorbancia inicial de la solución etanólica de DPPH

A_{muestra} : Absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra

Calculo de la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀)

La concentración requerida para el 50% de la inhibición del radical DPPH (CI₅₀) fue calculada mediante la ecuación exponencial de la concentración del extracto y trolox vs %DPPH_{REM}.

2.8.9. Determinación de la actividad antioxidante según el método ácido 2,2´azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS)

Preparación de la solución madre de ABTS: Se preparó una solución madre de ABTS (7 Mm), para ello se pesó exactamente 0,09601 g de ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, 98%) y se disolvió en 25mL de agua bidestilada³³.

Preparación de la solución de persulfato de potasio: Se preparó una solución de persulfato de potasio (2,45 Mm), para ello se pesó 0,0165 g de K₂S₂O₈ y se disolverá en 25 mL de agua bidestilada³³.

Preparación del radical ABTS⁰⁺

En un frasco ámbar, se colocó 5 mL de la solución madre ABTS (7 mM) y 5 mL de la solución de Persulfato de Potasio K₂S₂O₈ (2,45 mM), se homogenizó y se cubrió con papel aluminio.

La solución se incubó de 12 a 16 horas a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) antes de su utilización.

Una vez formado el radical ABTS⁰⁺ se diluyó con etanol 96° hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ($\pm 0,02$) a 754 nm (longitud de onda de 'máxima absorción).

Procedimiento

Se colocó 20 μL de las soluciones de los extractos y estándares a concentraciones de 50 a 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en tubos de vidrio y se hizo reaccionar con 980 μL del radical ABTS⁰⁺.

Se midió la densidad óptica de la mezcla de reacción al minuto 6 a 734 nm, los ensayos se realizaron por triplicado.

Cálculo del porcentaje de actividad antioxidante (%AA)

Los valores de absorbancia a todas las concentraciones ensayadas se convertirán en porcentaje de actividad antioxidante, que será determinada por la ecuación:

$$\%AA = \frac{\{[Abs_{control} - (Abs_{muestra} - Abs_{blanco})] \times 100\}}{Abs_{control}}$$

Dónde:

A_{control}: Absorbancia inicial de la solución ABTS

A_{muestra}: Absorbancia de la reacción del ABTS con la muestra.

Cálculo de la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀)

La concentración requerida para el 50% de inhibición del radical ABTS (CI₅₀) fue calculada mediante la ecuación lineal de la concentración del extracto y trolox.

2.8.10. Determinación de actividad antioxidante según el método FRAP (Poder de reducción antioxidante del hierro)

Este ensayo se basa en el poder de un compuesto o extracto para reducir la 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ). Un antioxidante potencial puede reducir el ión férrico (Fe³⁺) a ión ferroso (Fe²⁺); esta última forma un complejo azul (Fe²⁺/TPTZ), cuya absorbancia se lee a 590 nm, La reacción debe llevarse a cabo en condiciones ácidas (pH 3.6) para conservar la solubilidad del hierro. El poder reductor está relacionado con el grado de hidroxilación y la conjugación en los fenoles⁴⁶.

Desarrollo del método

Solución de ácido clorhídrico HCl 40 Mm. Se diluyó 535 uL de HCl (37%) en 100 mL de agua destilada. Solución TPTZ 10 mM. Se pesó 0,0312 g del reactivo TPTZ y se disolvió en un matraz de 10 mL con HCl 40 Mm. Tampón acetato 0.3 mM; pH 3,6 para 250 mL. Se disolvió 0,00615 g de acetato de sodio en 200 mL de agua destilada. Se ajustó el pH a 3,6 utilizando HCl 40 mM y se completó hasta los 250 mL con agua destilada⁴⁶.

Preparación de solución FRAP: se mezcló 25 mL del tampón acetato 0,3 mM, 2,5 mL de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine 10 mM preparado en HCl 40 mM y 2,5 mL de FeCl₃.6H₂O 20 mM. Esta preparación debe mantenerse durante todo el proceso en baño maría a 37°C.

Procedimiento:

Se colocó 20 µL de las soluciones de los extractos a concentraciones de 50 a 250 µg/mL en tubos de vidrio y se hacen reaccionar con 980 µL de la solución de trabajo. Se midió la densidad óptica de la mezcla de reacción al minuto 30 a 593 nm. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Cálculo del porcentaje de actividad antioxidante (%AA)

Los valores de absorbancia a todas las concentraciones ensayadas se convertirán en porcentaje de actividad antioxidante, que será determinada por la ecuación:

$$\%AA = \frac{\{[Abs_{control} - (Abs_{muestra} - Abs_{blanco})]x100\}}{Abs_{control}}$$

Dónde:

A_{control}: Absorbancia inicial de la solución FRAP

A_{muestra}: Absorbancia de la reacción del FRAP con la muestra.

Cálculo de la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀)

La concentración media inhibitoria (CI₅₀), se calculó según la ecuación lineal en función de la concentración del extracto y el trolox.

2.9. Tipo y diseño de investigación

2.9.1. Tipo de investigación

Básico – Descriptivo.

Porque se desea describir los contenidos de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas *mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma” y así aumentar los conocimientos de una determinada teoría.

2.9.2. Diseño de investigación

El diseño se diagrama de la siguiente manera³⁴.

M - O x y z

M : muestra

O : observación

XYZ: variables controladas estadísticamente (actividad antioxidante, fenoles totales y flavonoides)

2.10. Análisis de datos

Los datos obtenidos de la evaluación de los estudios fueron procesados por Microsoft Excel. Los resultados se expresan como promedio, la diferencia significativa existente entre los tratamientos son evaluadas a través del análisis de Varianza (ANOVA), seguidos de la prueba de t-students con un nivel de significación estadística de 0,05.

Para identificar diferencias estadísticamente significativas de las concentraciones evaluados se calculó en análisis de varianza, comparaciones múltiples del Duncan y prueba de levenne de muestras independientes con un nivel de confianza de 95%, mediante el programa SPSS.

IV. RESULTADOS

Tabla 5. Características fisicoquímicas del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018.

Parámetros	Ensayos	Resultados
Organolépticos	Color	Beige
	Olor	<i>Sui géneris</i>
	Sabor	Amargo
	Aspecto	Polvo fino
Solubilidad	Metanol	Poco soluble
	Etanol	Poco soluble
	Cloroformo	No soluble
	Butanol	No soluble
	Agua	Soluble
pH	Agua	4,64
Humedad	Perdida por desecación	3,53%
Cenizas	Cenizas totales	6,46%

Tabla 6. Identificación de metabolitos secundarios en el extracto de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman-burchard	+++	Verde con halo marrón
Quinonas	Bortranger	-	
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración amarillo
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	-	
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde
Antocianinas	Ácido clorhídrico (HCl)	-	
	Hidróxido de sodio (NaOH)	-	
Alcaloides	Dragendorff	+	Formación de
	Mayer	+	pequeñas
Saponinas	Wagner	+	precipitaciones
	Espuma	-	
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	-	

Leyenda:

(-) : ausente (+) : escasa (++) : buena (+++) : excelente

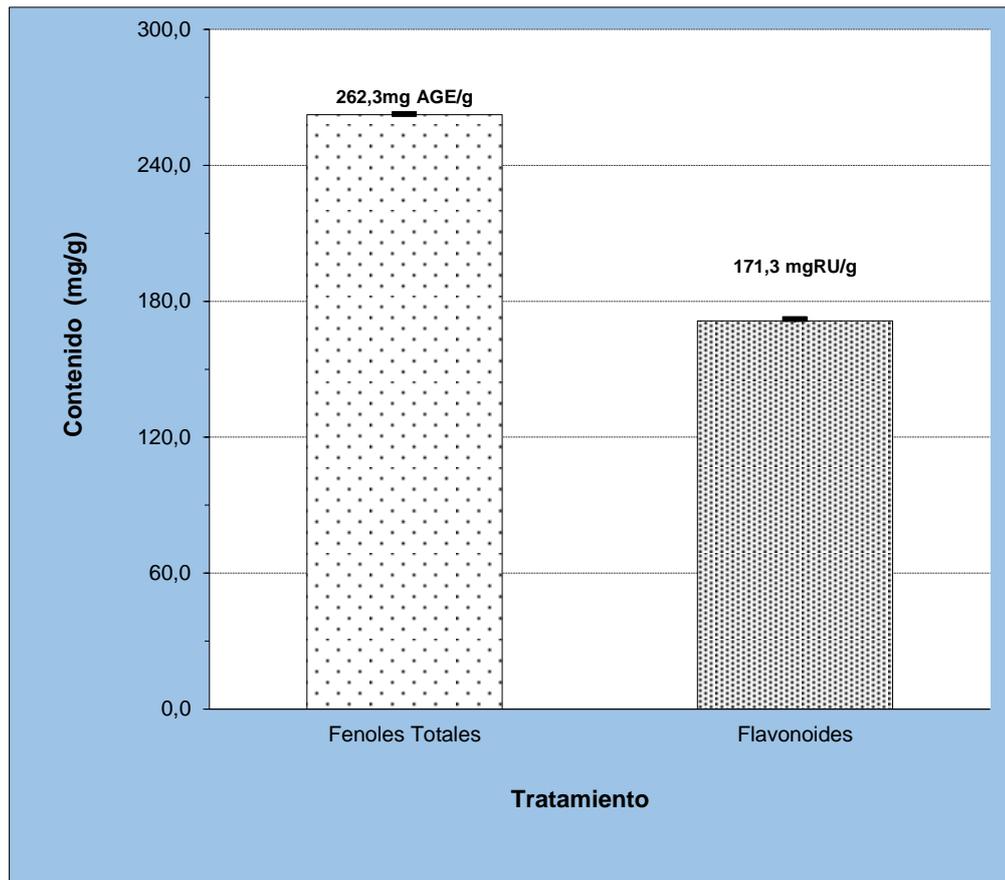
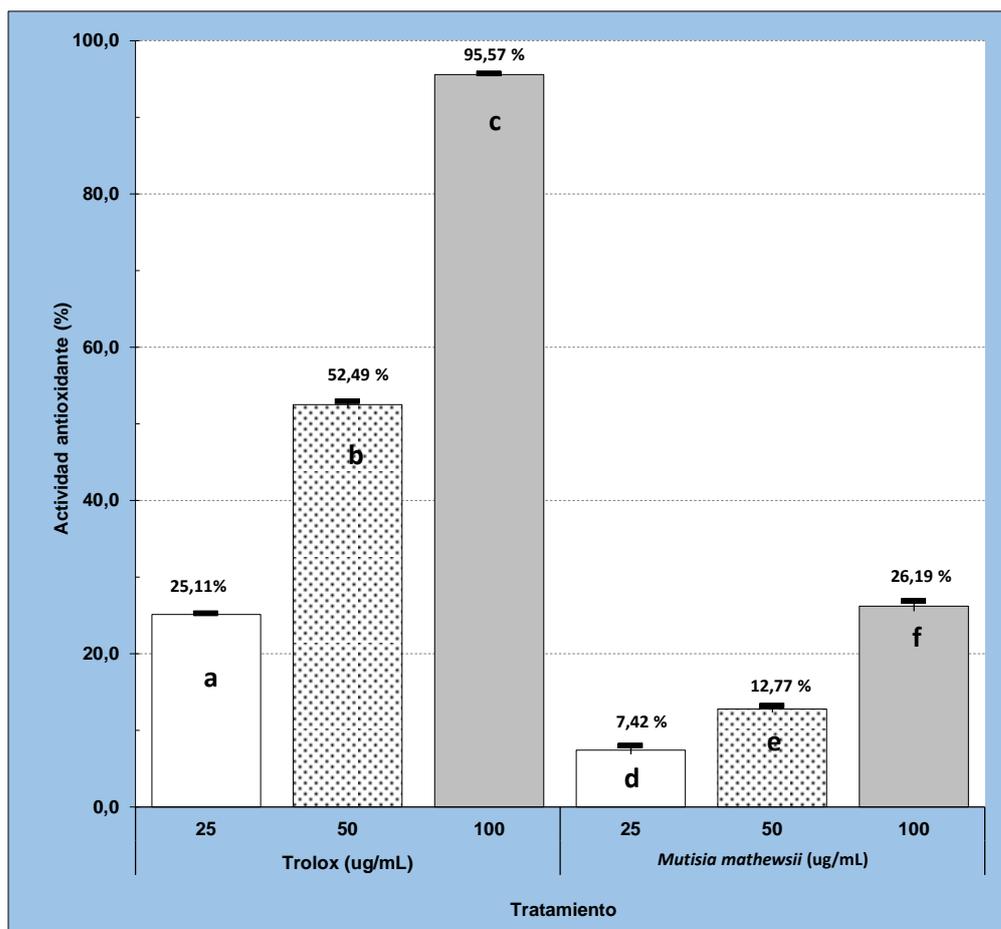
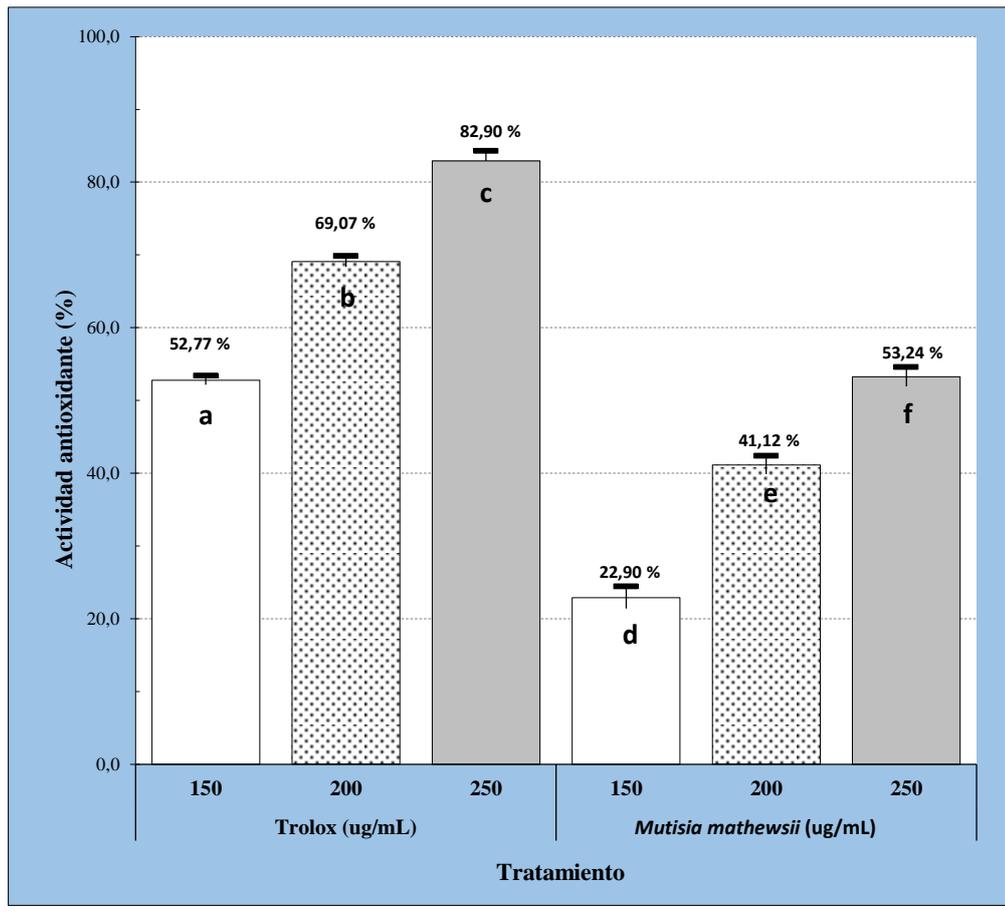


Figura 4. Contenido de fenoles totales y flavonoides en extractos atomizados de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.



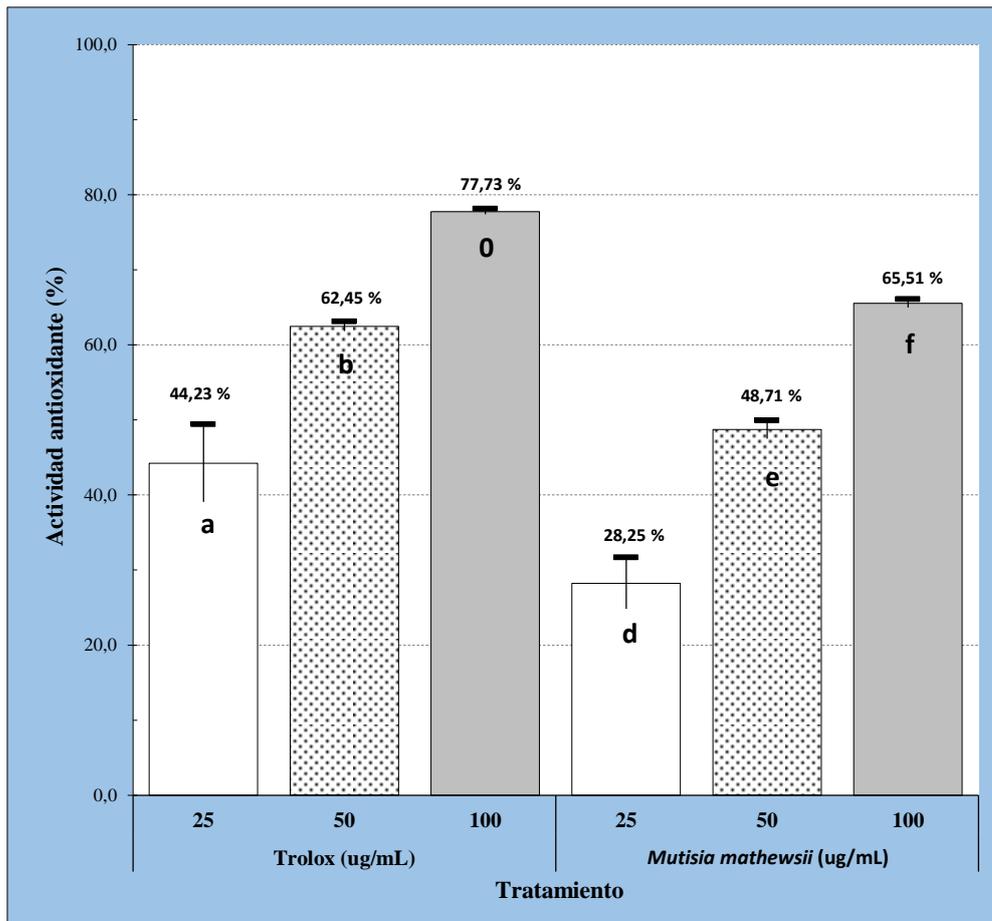
ANOVA, $p = 2,2 \times 10^{-26}$

Figura 5. Porcentaje de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.



ANOVA, $p = 7,3 \times 10^{-29}$

Figura 6. Porcentaje de actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.



ANOVA, $p = 8,1 \times 10^{-14}$

Figura 7. Porcentaje de actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

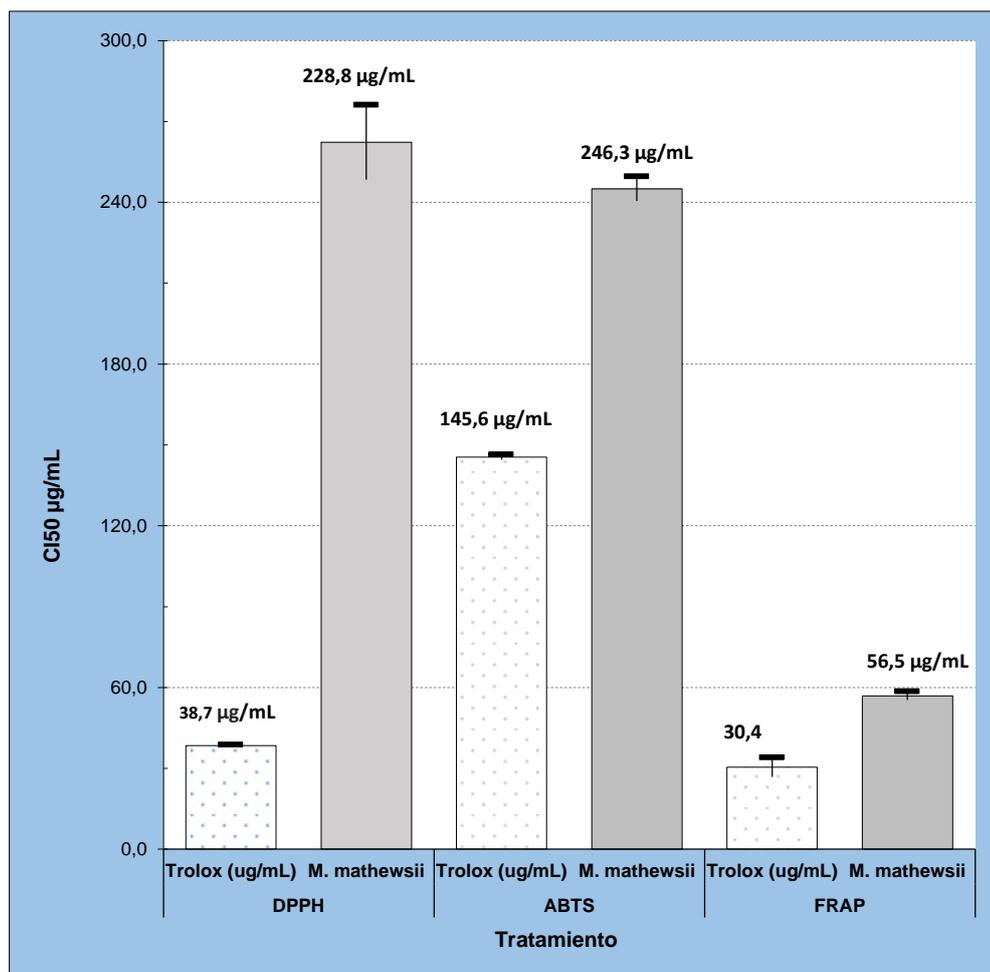


Figura 8. Concentración media inhibitoria (IC_{50}) de la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018.

V. DISCUSIONES

En este estudio se determinó la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”, perteneciente a la familia Asteraceae. En un estudio fitosociológico realizado por Rojas², menciona que los pobladores de la provincia de Arque – Cochabamba utilizan las flores de las plantas para tratar el dolor de estómago y la tos.

Por lo cual, primero se realizó un análisis fitoquímico para identificar los principales metabolitos presentes en el extracto de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”, utilizando pruebas colorimétricas y por consiguiente pruebas preliminares para la identificación de fenoles totales y flavonoides en el extracto atomizado. Los resultados obtenidos señalaron la presencia de taninos, flavonoides, triterpenos y/o esteroides (+++) y alcaloides (+) mostrados en la tabla 6 respectivamente. Los resultados descritos párrafos anteriores, se relaciona con el estudio realizado por Borja⁵, de otra especie del mismo género, encontrándose la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, azúcares reductores, carbohidratos, grupo amino libre, triterpenos y/o esteroides; así mismo, el estudio realizado por Fortuna⁶ evidenció la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, aminos terciarios, azúcares reductores, carbohidratos, grupo amino libre, triterpenos y/o esteroides de la especie *Mutisia acuminata*.

Para la identificación de compuestos fenólicos se realizó pruebas preliminares del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”, observándose una coloración verde intensa para los fenoles y una coloración amarilla para los flavonoides. Pérez *et al.*²⁴, menciona que los extractos con alcohol o acuosos pueden mostrar variaciones de color con el agregado de un álcali, si hay presencia de flavonas, flavanones e isoflavonas se ponen amarillas; flavononas y flavonoles de amarillo a naranja; chalconas de naranja a rojizo; así mismo, Miranda *et al.*²⁵, menciona que si el extracto de la

planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos, pero si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos: el desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general; verde intenso, taninos del tipo pirocatecólicos; azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

En la tabla 5, se presentan los parámetros fisicoquímicos de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma"; donde se evaluaron con el extracto de las hojas atomizadas de la muestra el porcentaje de humedad y cenizas obteniéndose 3,53% y 6,46% respectivamente, encontrándose valores cercanos a lo establecido. Ambas evaluaciones nos conlleva a poder deducir la viabilidad de la planta en cuanto a su producción, el valor de las cenizas totales nos indica sobre los elementos inorgánicos presentes en la planta y observando el valor dado anteriormente podemos deducir que la planta no presenta contaminantes ni metales pesados que pueden afectar su viabilidad. En cuanto a sus características organolépticas del extracto atomizado presenta un color beige, olor *sui generis*, sabor amargo, aspecto polvo fino, pH 4,64, soluble en agua y poco soluble en metanol y etanol. Borja⁵, en su investigación, realizó pruebas de solubilidad de la especie *acuminata*, siendo ésta soluble en agua, etanol y metanol, obteniéndose resultados semejantes a la especie en estudio.

El contenido de fenoles totales y flavonoides se presenta en la figura 4; como se puede observar, el extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma", presenta fenoles totales de $263,3 \pm 0,22$ mgEAG/gEA, expresados en ácido gálico por gramo de extracto y $171,3 \pm 0,63$ mgERu/gEA de flavonoides totales expresados en rutina por gramo de extracto. El contenido de flavonoides, como se puede observar, es menor en comparación con el contenido de fenoles totales; esto se debe a que lo fenoles engloban a los flavonoides. García³⁵, realizó la cuantificación de fenoles totales y flavonoides en extractos naturales obteniendo $221,481 \pm 0,630$; $110,244 \pm 0,097$ mgEAG/g de fenoles y $164,178 \pm 0,089$; $72,078 \pm 0,123$ mgcat/g de flavonoides en el extracto de la flor *Chiranthodendron pentadactylon* y *Malva sylvestris* respectivamente; así mismo, Palomino *et al.*³⁶, determinaron el contenido de fenoles en propóleos recolectadas en el departamento de Antioquia, los fenoles totales y flavonoides encontrados fueron $67,11 \pm 0,89$; $75,22 \pm 1,35$ mgEAG/g de EEP y $11,47 \pm 0,02$; $42,37 \pm 0,18$ mgQE/g de EEP para los propóleos en los Municipios de Caldas y Municipio de Betania respectivamente.

Los resultados del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma" y de cada estudio ya mencionados muestran, que los

extractos contienen compuestos fenólicos en cantidades significativas; por lo tanto la concentración de compuestos fenólicos, a su vez se relaciona con la actividad antioxidante en extracto de cada planta. Echavarría *et al.*³⁷, evidenció que los extractos con mayor contenido de compuestos fenólicos resultaron ser los de mayor actividad inhibitoria del radical DPPH, lo que demuestra que dicha actividad biológica se atribuye a los compuestos fenólicos; así mismo, García³⁵ nos menciona que la actividad antioxidante no está simplemente relacionada con los compuestos fenólicos totales determinados en los extractos. Los siguientes hechos deben ser tomados en cuenta: la existencia de agliconas libres y su incorporación a la determinación, además el hecho de que pueden ocurrir interacciones entre los componentes del extracto.

La determinación de fenoles totales, se realizó por el método espectrofotométrico Folin – Ciocalteu, la coloración obtenida (anexo 4) de la reacción del extracto atomizado con el reactivo determinada a 765 nm, según García³⁸ se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con dicho reactivo, a pH básico, dando a una coloración azul susceptible. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúnstico (formado por dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se mide para evaluar el contenido de polifenoles. El mecanismo de reacción es una redox, por lo que además puede considerarse también, como un método de medida de la actividad antioxidante total. Se trata de un método preciso y sensible, que puede padecer numerosas variaciones, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes utilizados de la muestra a analizar, concentración de reactivos y tiempo de reacción. Así mismo, la determinación de flavonoides se realizó también por el método espectrofotométrico con cloruro de aluminio (AlCl_3), en el que el color amarillo (anexo 4) de la reacción del extracto atomizado con el reactivo, según Valenzuela³⁹ se basa en que este compuesto forma complejos estables con el grupo ceto del C-4 y los hidroxilos del C-3 de los flavonoles y C-5 de las flavonas. Además, el AlCl_3 forma complejos ácidos lábiles con los grupos ortodihidroxilos del anillo A o B de los flavonoides. Los complejos formados por flavonoles con grupos hidroxilos en C-3 y C-5, como galangina, morina y canferol al igual que los que los poseen grupos orto-dihidroxilos adicionales, como

rutina, quercetina, y miricetina, tienen un máximo de absorbancia a 415 – 430 nm. Así mismo; Martínez *et al.*¹⁶, menciona que las propiedades ácido-base muestran que los radicales flavonoides son neutros en un medio ácido (por debajo de pH 3) y con una carga negativa a pH 7. Las repercusiones de la carga negativa son sumamente importantes en la evaluación del potencial antioxidante de los flavonoides. Y así mismo; Gilberto⁴⁵, también menciona que los flavonoides con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B se muestran más activos como antioxidantes y que este efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 (una forma libre es más lipofílica que la glicosídica), un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo OH en posición 5 puede aumentar la actividad antioxidante por incremento de la deslocalización electrónica. Por tanto, los flavonoides con un núcleo pirogalónico en el anillo B exhiben una mayor actividad antioxidante que los que presentan un núcleo catecólico.

La actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma” se evaluó a través del método espectrofotométrico *in-vitro* con las especies radicalarias sintéticas DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil), ABTS (ácido 2,2' azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) y FRAP (poder de reducción antioxidante del hierro), puestos que estos son los más utilizados debido a que indican de manera general la capacidad antioxidante de las sustancias para donar hidrógenos o captar electrones. Para contrastar el porcentaje de actividad antioxidante mediante los métodos ya mencionados, se utilizó como estándar el Trolox.

Para determinar la actividad antioxidante mediante el método DPPH, se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Sousa *et al.*⁴⁰, a las concentraciones de 1 µg/mL; 5 µg/mL; 10 µg/mL; 15 µg/mL; 20 µg/mL; 25 µg/mL; 30 µg/mL y 35 µg/mL. La muestra problema y estándar fueron preparadas a las concentraciones de 25 µg/mL; 50 µg/mL; 100 µg/mL; 150 µg/mL; 200 µg/mL y 250 µg/mL. La coloración de la solución de alcohol DPPH desaparece en presencia de antioxidantes (anexo 6), lo que produce un descenso de la absorbancia a 515 nm. El reactivo DPPH es hidrófoba por lo que sus reacciones deben ejecutarse en solventes orgánicos y compuestos de menor polaridad.

La figura 5 y 7, muestran los resultados de la actividad antioxidante según el método DPPH y FRAP del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma” y del estándar Trolox a concentraciones de 25

$\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$ y 100 $\mu\text{g/mL}$. A estas concentraciones el extracto, muestra una capacidad antioxidante de 7,42%; 12,77% y 26,19% respectivamente en relación al Trolox, mostrando ésta una capacidad antioxidante de 25,11%; 52,49% y 95,57%; presentando *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma" una actividad antioxidante tres veces menor que el estándar, según el método de DPPH. En el caso del método FRAP, a las mismas concentraciones, se obtuvo 28,25%; 48,71%; 65,51% de capacidad antioxidante de la muestra y 44,23%; 62,45% y 77,73% del Trolox respectivamente.

En la figura 6, se observa los resultados de la actividad antioxidante según el método de ABTS del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma" a concentraciones de 150 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$ y 250 $\mu\text{g/mL}$, donde se muestra una actividad antioxidante de 22,90%; 41,12%; 53,24% del extracto atomizado y 52,77%; 69,07%; 82,90% del Trolox respectivamente.

Los métodos de evaluación utilizadas en este trabajo de investigación, mide diferentes mecanismos de acción de actividad antioxidante; mientras que el DPPH y ATBS está relacionado con la capacidad de transferir átomos de hidrógenos fenólicos, FRAP mide la capacidad reductora del extracto. Con el método FRAP el valor de la actividad antioxidante fue superior al comparado con el método DPPH y ABTS, esto se debe a la menor selectividad del método FRAP⁴¹.

Así mismo; Aubad⁴², menciona que los flavonoides que no contengan grupos hidroxilo en el anillo B, así como compuestos que contengan ácidos aromáticos con un solo grupo hidroxilo, no reaccionarían con el radical DPPH, pero si lo harían con el radical ABTS. Por un lado, el potencial redox del Fe^{3+} - TPTZ es cercano al del ATBS y compuestos similares podría reaccionar en ambos métodos; así mismo, soluciones acuosas y compuestos con polaridad alta podrían tener una buena reactividad por los dos métodos. Otro factor importante en el caso de DPPH es la accesibilidad estérica y por ello el tamaño de las moléculas puede afectar la reacción.

Se observan diferencias entre los resultados de los ensayos de captura de radicales libres empleados. Estos ensayos miden la capacidad de los antioxidantes presentes en una muestra para capturar el radical libre, sin embargo, sus condiciones de reacción y cinética son diferentes. Además, otra importante diferencia entre estos ensayos es que el ABTS puede medir actividad antioxidante en medio orgánico o acuoso teniendo en cuenta la

naturaleza hidrofílica o lipofílica de los compuestos en la muestra. Contrario a esto, el ensayo de DPPH sólo se puede realizar en un medio orgánico, lo cual constituye una limitante al momento de interpretación de la capacidad antioxidante de los compuestos hidrofílicos presentes en muestra, situación que justifica las diferentes evidenciadas entre estas determinaciones espectrofotométricas.

En la figura 8, se muestran los resultados de la concentración media inhibitoria (IC_{50}), del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”, donde a menor concentración media inhibitoria (IC_{50}) mayor capacidad antioxidante, los resultados obtenidos fueron 228,8 $\mu\text{g/mL}$; 246,3 $\mu\text{g/mL}$; 56,5 $\mu\text{g/mL}$, según los métodos de DPPH, ABTS y FRAP respectivamente. Además, son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), tal como se observa en el anexo 13, 14 y 15.

Echavarría *et al.*³⁷, evaluaron la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas, mediante el método DPPH en solventes diferente, obteniendo como concentración media inhibitoria (IC_{50}) 0,261 y 0,829 mg/mL de *Sargassum cymosum*; 0,361 y 2,065 mg/mL de *Sargassum sp.*; 0,645 y 1,829 mg/mL de *Dictyota sp.*, en metanol y hexano respectivamente. Así mismo, Barrón *et al.*⁴³, en su estudio de flavonoides y actividad antioxidante de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev obtuvieron como resultado 568,630 $\mu\text{g/mL}$ en la fracción 1 y 168,903 $\mu\text{g/ml}$ en la fracción 2 de concentración media inhibitoria (IC_{50}); Y Aparcana *et al.*⁴⁴, determinaron la capacidad antioxidante del extracto etanólico de los frutos de *physalis peruviana* “aguaymanto”, mediante los métodos de DPPH y ABTS, obteniendo como concentración inhibitoria inhibitoria (IC_{50}) 1,86 mg/mL por el método DPPH y como concentración media inhibitoria (IC_{50}) 1,29 mg/mL por el método ABTS.

VI. CONCLUSIONES

1. Se determinó el contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma"; presentando ésta compuestos fenólicos y capacidad antioxidante significativamente menores al Trolox, con una concentración media inhibitoria (IC₅₀) de $228,8 \pm 0,36 \mu\text{g/mL}$; $246,3 \pm 4,19 \mu\text{g/mL}$ y $56,5 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$ frente al radical DPPH, ABTS y FRAP respectivamente.
2. El extracto atomizado tiene un olor *suigéneris*, sabor amargo, de color beige y tiene un aspecto de polvo fino homogéneo. Es muy soluble en agua, con pH igual a 4,64; con humedad de 3,36%; cenizas 6,46%.
3. Los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma" son: triterpenos y/o esteroides, flavonoides, fenoles y alcaloide.
4. El contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma" es de $263,3 \pm 0,22 \text{ mgEAG/gEA}$ y $171,3 \pm 0,63 \text{ mgERu/gEA}$ respectivamente.
5. El porcentaje de actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma", según el método DPPH a concentraciones de $25 \mu\text{g/mL}$; $50 \mu\text{g/mL}$ y $100 \mu\text{g/mL}$ es de $7,42 \pm 0,55\%$; $12,77 \pm 0,43\%$ y $26,19 \pm 0,66\%$. Según el método ABTS a concentraciones de $150 \mu\text{g/mL}$, $200 \mu\text{g/mL}$ y $250 \mu\text{g/mL}$ fue de $22,90 \pm 1,52\%$; $41,12 \pm 1,23\%$ y $53,24 \pm 1,30\%$; y finalmente según el método FRAP a concentraciones de $25 \mu\text{g/mL}$, $50 \mu\text{g/mL}$ y $100 \mu\text{g/mL}$ es de $28,25 \pm 3,40\%$; $48,71 \pm 1,20\%$ y $65,51 \pm 0,54\%$. Estos resultados son significativamente menor al Trolox.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas cromatografías para identificar los tipos de flavonoides presentes en esta especie.
2. Continuar con nuevos estudios de esta especie vegetal por su alto contenido de flavonoides.
3. Realizar estudios para determinar su actividad antiespasmódica en las flores de la planta de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”.
4. Efectuar estudios toxicológicos de la especie *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma” para una mejor evaluación de la investigación.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hurtado Huarcaya J., Albán Joaquina. Conocimiento tradicional de la flora silvestre en las comunidades campesinas del Santuario Histórico de la Pampa de Ayacucho (Quinoa, Ayacucho, Perú). Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas. 2018. 17(3):286-30. Disponible en: https://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo_5_-_1432_-_286_-_301_0.pdf
2. Rojas Navi P. Estudio Fitosociológico de Pastizales y Catalogo Florístico de la Provincia de Arque-Cochabamba [internet] [tesis]. [La Paz - Bolivia]: Universidad Mayor de San Simón; 1993 [citado 12 de enero 2019]. Disponible en: http://www.bivica.org/upload/ag_estudio-fitosociologico.pdf
3. Horna Acevedo L., López Cenizario C. Capacidad Antioxidante *in vitro* de los Flavonoides totales obtenidos de las Hojas de *Sambucus peruviana* H.B.K. (Sauco) proveniente de la Ciudad de Huamachuco. [tesis]. Trujillo; Universidad Nacional de Trujillo, 2012.
4. Mujica Gabriela. Actividad Antioxidante de las Fracciones Aisladas de las Hojas y Flores de *Mutisia acuminata* R & P. "chinchilcoma". [tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, 2013.
5. Borja Bartolo K. Efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia acuminata* R. & P. "chinchilcoma". [tesis]. Lima; Universidad Wiener, 2013.
6. Fortuna García E. Evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas frescas de *Mutisia acuminata* R. & P. "chinchilcoma" en cerebros y cerebelos de ratas albinas cepa Holtzman. [tesis]. Lima; Universidad Wiener, 2013.
7. Abarca Caqui Aída V. Efecto del Extracto Hidroalcohólico de Hojas Frescas de *Mutisia acuminata* R & P. "chinchilcoma" en la Hiperplasia Benigna Prostática Inducida por Alcohol Etilico en Ratas. [tesis]. Lima; Universidad Wiener, 2013.
8. Loja Herrera B. Contribución al Estudio Florístico de la Provincia de Concepción, (Junín): Dicotiledóneas [internet] [tesis]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marco; 2002 [citado 12 de enero 2019]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/loja_h_b/t_completo.pdf
9. Avello Marcia, Suwalsky Mario. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección [internet]. ATENEA [Concepción]; 2006. 494 (2): 161-172. [citado 12 de enero 2019]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/atenea/n494/art10.pdf>
10. Gómez Ruiz LR. Evaluación de la actividad antioxidante en los extractos obtenidos por CO₂ supercrítico [internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: Universidad Distrital de Francisco José de Caldas; 2017 [citado 20 de enero 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PELO>
11. Coavoy Sanchez IA. Evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) del distrito de San Bartolomé, Huarochirí, Lima [internet] [tesis]. [Lima – Perú]: Universidad Peruana Unión; 2015 [citado 20 de enero 2019]. Disponible en: http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/232/lbeth_Tesis_bachiller_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y
12. Villanueva Bautista E. Contenido de betalaínas y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *Chenopodium quinoa* Will "quinua" del distrito de Tambillo-Ayacucho 2014 [internet] [tesis]. [Ayacucho, Perú]

- universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015 [citado 20 de enero 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PE7Z>
13. Coronado H., Vega Salvador, Gutiérrez R., Vásquez M., Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana [internet]. Rev. Chil Nutr [México]; 2015. 42(2): 206-2012. [citado 22 de enero 2019]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
 14. Venereo Gutiérrez Justo R. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes [internet]. Rev. Cubana Medicina Militar [Cuba]; 2002. 31(2):126-133. [citado 22 de enero 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PE7I>
 15. Quispe Garabito V. Formulación de una crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris molau* "romero". [tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015.
 16. Martínez S, Gonzáles J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes [internet]. Rev. Nutrición Hospitalaria [España]; 2002. 17(6): 271-278. [citado 22 de enero 2019]. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
 17. Muedas Taipe G. Estudio químico y de actividad antioxidante de la *Bauhinia guinensis var. kuntiana Aubl.* [Internet] [tesis]. [Lima, Peru]: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2013 [citado 29 de enero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PE7r>
 18. Cerón Martínez LJ, López Ledesma IA. Extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidante a partir de cáscaras de tres variedades de papa (*solanum tuberosum*) en el departamento de Nariño [Internet] [tesis]. [San Juan de Pasto, Colombia]: Universidad de Nariño; 2013 [citado 29 de enero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PE80>
 19. Bohórquez Fajardo R. Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostegium phylloides* (Kunth) Wedd [Internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: universidad de ciencias aplicadas y ambientales u.d.c.a.; 2016 [citado 29 de enero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PE8H>
 20. Usquiano Lecoña IV. Evaluación de la capacidad antioxidante y determinación de compuestos fenólicos a partir de extractos de frutas de los valles de la Paz [Internet] [tesis]. [La Paz, Bolivia]: Universidad Mayor de San Andrés; 2013 [citado 29 de enero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PE8K>
 21. Huaccho Huamán CV. capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de mashua (*tropaeolum tuberosum ruiz y pavón*) [internet] [tesis]. [lima, Perú]: Universidad Nacional Agraria la Molina; 2016 [citado 29 de enero de 2019]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2844/Q04-H833-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 22. Universidad Autónoma de Nuevo León, México, Rivas Morales C., Oranday Cárdenas MA, Verde Star MJ. Investigación en plantas de importancia médica [Internet]. 1.ª ed. México: OmniaScience; 2016 [citado 29 de enero de 2019]. 452 p. Disponible en: <http://cort.as/-PE8X>
 23. Valenzuela Bustamante PD. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *ugni molinae turcz.* [Internet] [tesis]. [Santiago, Chile]: Universidad de Chile; 2015 [citado 30 de enero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PE8v>
 24. Azahuanche FP, Aponte GL, Ávalos FR, Núñez LV. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. Pueblo Cont. 2011; 22(2):421-426.

25. Miranda M, Cuéllar A. Manual de Prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de la Habana: Editorial Félix Varela; 2000.
26. Paniagua J. Formulación y evaluación de la actividad antiinflamatoria de la crema y gel elaborado a base de extracto atomizado de la corteza de la *Uncaria tomentosa* (Willd) OC. "uña de gato". [tesis]. Ayacucho; Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, 2008.
27. Fauli Trillo C. Tratado de Farmacia Galénica. Madrid: Ed. Luzán 5 S.A; 1993.
28. Rodríguez Chanfrau J. Estabilidad y estandarización en control de calidad de medicamentos, CIDEM (Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos) la Habana Cuba [artículo diapositivas en internet]. 2010. Dp. 51-61. [citado 1 de febrero 2019]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol37_3_03/far1_0303.htm
29. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. La Habana - Cuba; Universidad de la Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos. 2002.
30. Carpio Apaza RE, Figueroa Huayllapuma T. Efecto de la adición de goma arábica y maltodextrina en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en extracto de sancayo (*Corryocactus brevistylus*) liofilizado [Internet] [tesis]. [Arequipa - Perú]: universidad nacional de san Agustín de Arequipa; 2017 [citado 1 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3014/lacaapr.pdf?sequence=1>
31. Gómez Salguero D. Determinación de la capacidad antioxidante del aceite de híbrido de palma en diferentes estados de maduración [Internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: pontificia universidad javeriana; 2014 [citado 1 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PE9o>
32. Gonzales Gonzales L. Composición fenólica y actividad antioxidante de las hojas de *Mosiera crenulata* [Internet] [tesis]. [Cuba]: Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas; 2016 [citado 1 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://dspace.uclv.edu.cu/handle/123456789/6372?show=full>
33. Carvajal Aguilar MG. Evaluación de la actividad antioxidante de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca Sellowiana*) [Internet] [tesis]. [Riobamba, Ecuador]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015 [citado 6 de enero de 2018].
34. Ferreira Rocha AM. Sistema de interacción familiar asociado a la autestima de menores en situación de abandono moral o prostitución. [Internet] [tesis]. [Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2003 [citado 1 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PEA9>
35. García Nava MA. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. [Internet] [tesis]. [México]: Universidad Autónoma de Querétaro. [citado 6 de enero de 2018]. Disponible en: <http://cort.as/-PEAZ>
36. Palomino LR, García CM, Gil JH, Rojano BJ, Durango DL. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquía (Colombia). [Internet] [tesis]. [Medellín, Colombia]: Universidad de Antioquía; 2009. 16(3): 388-395. [citado 2 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-P6fg>
37. Echavarría B, Francos A, Martínez A. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe colombiano. [Internet] [tesis]. [Medellín, Colombia]: Universidad de Antioquía; 2009. 16(1): 126-131. [citado 2 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a15.pdf>
38. García E, Fernández I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. [Internet] [tesis]. [Valencia, España]:

- Universidad Politécnica de Valencia. [citado 2 de febrero de 2019]. Disponible en:
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%A1nez%20et%20al.pdf?sequence=1>
39. Valenzuela Bustamante PD. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *ugni molinae turcz.* [Internet] [tesis]. [Santiago, Chile]: Universidad de Chile; 2015. [citado 2 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/134044>
 40. Souca C de M, Silva HR, Vieira Jr GM, Ayres MCC, Costa C da, Araujo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais [Internet]. *Quim Nova.* 2007; 30(2): 351-355. [citado 2 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n2/20.pdf>
 41. Rodríguez L, López L, García M. Determinación de la composición química y actividad antioxidante en distintos estados de madurez de frutas de consumo habitual en Colombia, mora (*Rubus glaucus B.*), maracuyá (*Passiflora edulis S.*), guayaba (*Psidium guajava L.*) y papayuela (*Carica cundinamarcensis J.*). [Internet] [tesis]. [Bogotá, Colombia]: Universidad Jorge Tadeo Lozano; 2015. [citado 2 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PELP>
 42. Aubad López P., Rojano B., Lobo Echeverría T. Actividad antioxidante en musgos. *Scientia et Technica* [Internet]. 2007; 33(8): 23-26. [citado 2 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PEBS>
 43. Barrón R., García M., Soto M., Colinas T., Geoffrey Kite. Flavonoides y actividad antioxidante de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Rev. Fitotec. Mex.* [Internet]. 2011; 34(3): 151-257. [citado 2 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v34n3/v34n3a5.pdf>
 44. Aparcana Ataurima IM, Villareal Inca Leydi Steffani. Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de *Physalis peruviana* “aguamanto” de diferentes lugares geográficos del Perú. [Internet] [tesis]. [Lima, Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2014. [citado 2 de febrero de 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PEBg>
 45. Pérez Trueba Gilberto. Los flavonoides: antioxidantes y prooxidantes. [internet]. *Rev. Cubana Invest Biomed* [Cuba]; 2003. 22(1): 48-57. [citado 4 de febrero 2019]. Disponible en: <http://cort.as/-PEBw>
 46. Oropeza Guerrero MP. Alcaloides totales y actividad antioxidante de extractos metanólicos de hojas de *Ipomoea murucoides* (casahuate) [Internet] [tesis]. [Oaxaca, México]: universidad tecnológica de la mixteca; 2012 [citado 5 de enero de 2018]. Disponible en: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/11616.pdf

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de la clasificación taxonómica de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.



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

C E R T I F I C A

Que el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito medicamentos "Marco A. Garrido Malo, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de Investigación

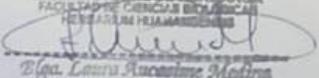
Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988 y es como sigue

DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	ASTERIDAE
ORDEN	ASTERALES
FAMILIA	ASTERACEAE
GENERO	Mutisia
ESPECIE	<i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn.
N V	"chinchilcuma"

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

Ayacucho 7 de Setiembre del 2017

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



Elga Laura Macarino Melina
JEFE

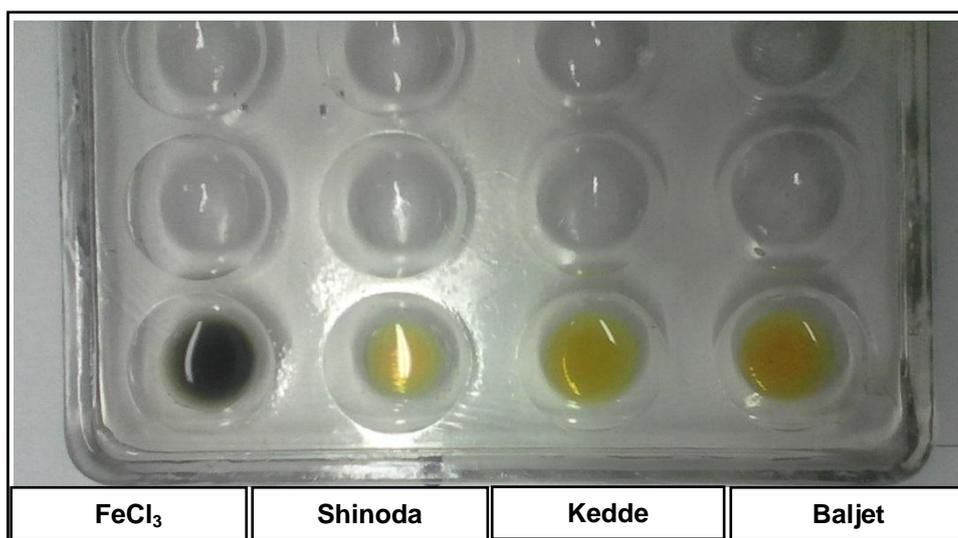
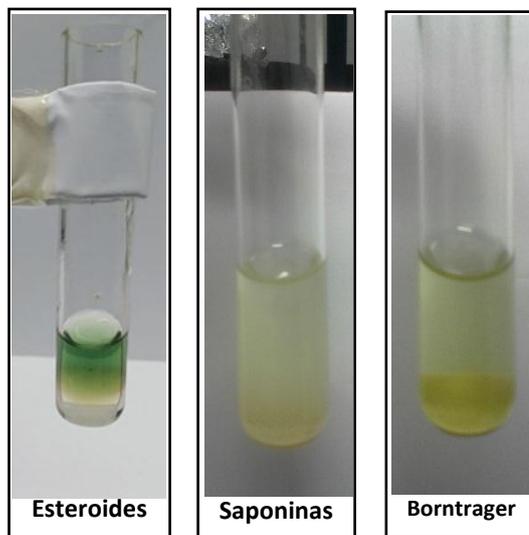
Anexo 2. Fotografía de la especie *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018.



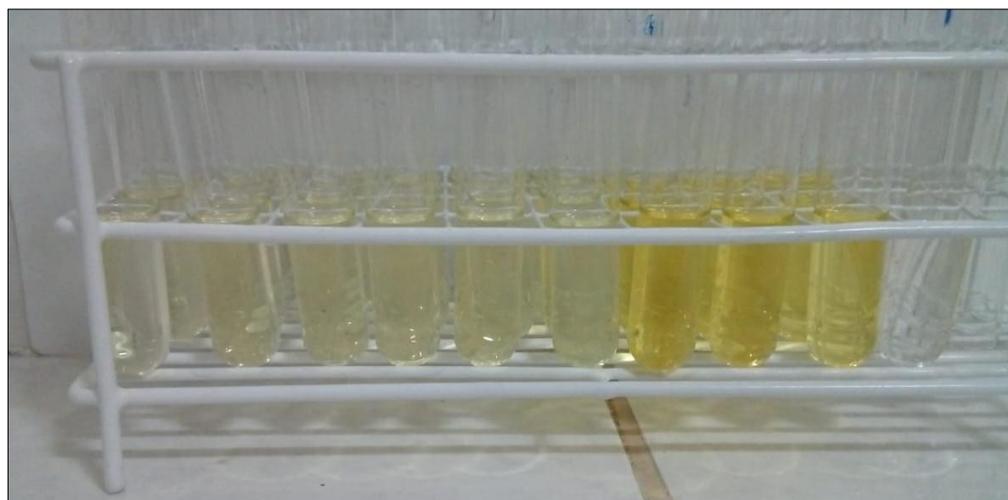
Anexo 3. Fotografía en el área de atomizado del laboratorio del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, 2018.



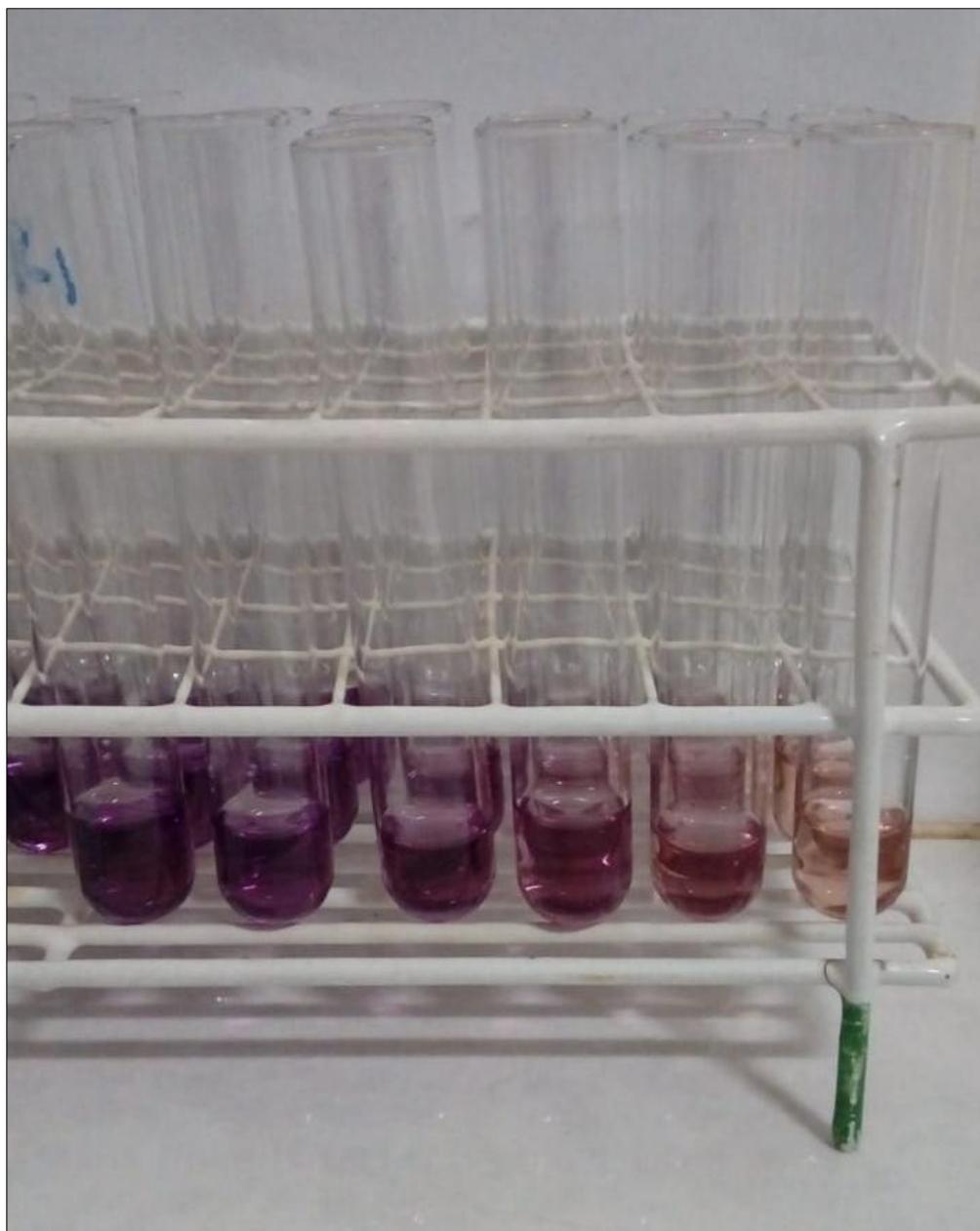
Anexo 4. Fotografía de los resultados de la marcha fitoquímica del extracto de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.



Anexo 5. Fotografía de los resultados de la cuantificación de fenoles y flavonoides del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.



Anexo 6. Fotografía de la cuantificación de la actividad antioxidante según el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018.



Anexo 7. Cuadro de análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	16167,1	5,0	3233,4	70684,6	2,2 x 10 ⁻²⁶
Dentro de grupos	0,5	12,0	0,0		
Total	16167,7	17			

Si: Sig. > 0,05; estadísticamente estadístico

Si: Sig. < 0,05; se considera significativo desde un punto de vista estadístico.

Anexo 8. Cuadro de comparación múltiple de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
<i>M. mathewsii</i> 25 ug/mL	3	7,4					
<i>M. mathewsii</i> 50 ug/mL	3		12,8				
Trolox 25 ug/mL	3			25,1			
<i>M. mathewsii</i> 100 ug/mL	3				26,2		
Trolox 50 ug/mL	3					52,5	
Trolox 100 ug/mL	3						95,6
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Se muestran las medias para los grupos en los subgrupos homogéneos

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,00

Anexo 9. Cuadro de análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6589,7	5,0	1317,9	3949,9	7,3 x 10 ⁻²⁹
Dentro de grupos	4,0	12,0	0,3		
Total	6593,7	17			

Si: Sig. > 0,05; estadísticamente estadístico

Si: Sig. < 0,05; se considera significativo desde un punto de vista estadístico.

Anexo 10. Cuadro de comparación múltiple de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de ATBS del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA				
		1	2	3	4	5
<i>M. mathewsii</i> 150 ug/mL	3	22,9				
<i>M. mathewsii</i> 200 ug/mL	3		41,1			
Trolox 150 ug/mL	3			52,8		
<i>M. mathewsii</i> 250 ug/mL	3			53,2		
Trolox 200 ug/mL	3				69,1	
Trolox 250 ug/mL	3					82,9
Sig.		1,00	1,00	0,34	1,00	1,00

Se muestran las medias para los grupos en los subgrupos homogéneos

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,00

Anexo 11. Cuadro de análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4656,6	5,0	931,3	567,5	8,1 x 10 ⁻¹⁴
Dentro de grupos	19,7	12,0	1,6		
Total	4676,3	17			

Si: Sig. > 0,05; estadísticamente estadístico

Si: Sig. < 0,05; se considera significativo desde un punto de vista estadístico.

Anexo 12. Cuadro de comparación múltiple de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de ATBS del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. “chinchilcuma”. Ayacucho, 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
<i>M. mathewsii</i> 25 ug/mL	3	28,3					
Trolox 25 ug/mL	3		44,2				
<i>M. mathewsii</i> 50 ug/mL	3			48,7			
Trolox 50 ug/mL	3				62,5		
<i>M. mathewsii</i> 100 ug/mL	3					65,5	
Trolox 100 ug/mL	3						77,7
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Se muestran las medias para los grupos en los subgrupos homogéneos

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,00

Anexo 13. Cuadro de prueba de Levene de igualdad de varianzas del IC₅₀ mediante la captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	6,33	0,0657	-1745,82	4	6,45888x10 ⁻¹³	-190,09	0,11	-190,39	-189,79
No se asumen varianzas iguales			-1745,82	2,423	0,0000	-190,09	0,11	-190,49	-189,69

Sig. Bilateral = p

Si $p < 0,05$; se considera significativo desde un punto de vista estadístico.

Anexo 14. Cuadro de prueba de Levene de igualdad de varianzas del IC₅₀ mediante la captación del radical ABTS del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	GI	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	9,65	0,0360	-76,28	4	1,77021x10 ⁻⁷	-99,56666667	1,31	-103,19	-95,94
No se asumen varianzas iguales			-76,28	2,169	0,0001	-99,56666667	1,31	-104,78	-94,35

Sig. bilateral = p

Si $p < 0,05$; se considera significativo desde un punto de vista estadístico.

Anexo 15. Cuadro de prueba de Levene de igualdad de varianzas del IC₅₀ mediante la captación del radical FRAP del extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	1,46	0,2930	-23,91	4	1,81548x-10 ⁻⁵	-26,51	1,11	-29,59	-23,43
No se asumen varianzas iguales			-23,91	2,724	0,0003	-26,51	1,11	-30,25	-22,77

Sig. bilateral = p

Si $p < 0,05$; se considera significativamente desde un punto de vista estadístico.

Anexo 16. Cuadro de porcentajes de la actividad antioxidante según el método de DPPH del trolox y el extracto de las hojas de extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

E.A. [ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	25,11	0,048	0,191	0,12	25,23	24,99
50	52,49	0,166	0,316	0,41	52,90	52,08
100	95,57	0,048	0,050	0,12	95,69	95,45
150	95,57	0,048	0,050	0,12	95,69	95,45
200	96,11	0,127	0,132	0,31	96,42	95,79
250	96,62	0,096	0,099	0,24	96,85	96,38

E.A. [ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	7,42	0,220	2,959	0,55	7,96	6,87
50	12,77	0,173	1,353	0,43	13,20	12,34
100	26,19	0,267	1,019	0,66	26,85	25,52
150	39,97	0,533	1,335	1,33	41,30	38,65
200	53,22	0,335	0,630	0,83	54,05	52,39
250	68,16	0,048	0,070	0,12	68,28	68,04

Anexo 17. Cuadros de porcentajes de la actividad antioxidante según el método de ABTS del trolox y el extracto de las hojas de extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

E.A. [ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	9,28	0,180	1,939	0,45	9,73	8,84
50	17,70	0,136	0,769	0,34	18,04	17,36
100	35,93	0,425	1,182	1,06	36,99	34,88
150	52,77	0,245	0,465	0,61	53,38	52,16
200	69,07	0,297	0,429	0,74	69,81	68,34
250	82,90	0,548	0,661	1,36	84,26	81,53

E.A. [ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	0,65	0,551	84,964	1,37	2,02	-0,72
50	8,73	0,308	3,523	0,76	9,50	7,97
100	16,47	0,244	1,485	0,61	17,07	15,86
150	22,90	0,611	2,668	1,52	24,42	21,39
200	41,12	0,494	1,201	1,23	42,34	39,89
250	53,24	0,522	0,980	1,30	54,54	51,94

Anexo 18. Cuadros de porcentajes de la actividad antioxidante según el método de FRAP del trolox y el extracto de las hojas de extracto atomizado de las hojas de *Mutisia mathewsii* Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho, 2018.

E.A. [ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	44,23	2,075	4,690	5,15	49,39	39,08
50	62,45	0,257	0,411	0,64	63,09	61,81
100	77,73	0,140	0,181	0,35	78,08	77,38
150	83,23	0,111	0,134	0,28	83,51	82,96
200	87,40	0,021	0,024	0,05	87,46	87,35
250	89,97	0,013	0,015	0,03	90,00	89,94

E.A. [ug/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	28,25	1,370	4,851	3,40	31,66	24,85
50	48,71	0,483	0,992	1,20	49,91	47,51
100	65,51	0,217	0,331	0,54	66,05	64,97
150	73,63	0,215	0,292	0,53	74,16	73,09
200	78,82	0,039	0,050	0,10	78,91	78,72
250	82,88	0,039	0,047	0,10	82,98	82,79

Anexo 19. Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Ayacucho – 2018.</p>	<p>¿Las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma" contendrá compuestos fenólicos con actividad antioxidante?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante <i>in vitro</i> de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma", Ayacucho 2018. <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS :</p> <ul style="list-style-type: none"> Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Determinar la composición fitoquímica del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". Cuantificar fenoles totales y flavonoides del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma", mediante el método Folin Ciocalteau. Determinar la actividad antirradical del extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma", mediante los métodos DPPH, ABTS y FRAP. 	<p>Antioxidantes: Es una sustancia de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones, los que son captados por los radicales.</p> <p>Compuestos fenólicos: Los compuestos fenólicos o polifenoles 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, glicósidos, etc.).</p>	<p>H₀: el extracto atomizado de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn., tienen fenoles totales y flavonoides, con actividad antioxidante.</p> <p>H₁: el extracto de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn., no tienen fenoles totales y flavonoides, con actividad antioxidante.</p>	<p>Variable de interés 1: Compuestos fenólicos.</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> Equivalentes de ácido gálico (mg/g) Equivalentes de rutina (mg/g) <p>Variable de interés 2: Capacidad antioxidante</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> Porcentaje de capacidad captadora de radicales libres, CL50. 	<p>Tipo: Básico</p> <p>Diseño: Descriptivo</p> <p>Población: Hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma", que crecen en las zonas áridas, del centro poblado de Waraca anexo Anchac - Huasi, provincia de Vinchos del departamento de Ayacucho.</p> <p>Muestra: 1 kg de las hojas de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma"</p> <p>Metodología:</p> <ul style="list-style-type: none"> Se recolectará y se secará la muestra de <i>Mutisia mathewsii</i> Hook & Arn. "chinchilcuma". La obtención del extracto atomizado con alcohol 70°. Se procederá a evaluar tamizaje fitoquímico del extracto atomizado. Se determinará los niveles de fenoles totales usando el método de Folin Ciocalteau. El porcentaje de actividad antioxidante se determinará por el método de DPPH, ABTS y FRAP. <p>Análisis de datos: Los datos serán organizados en una matriz para calcular el análisis de varianza, comparaciones múltiples del Duncan y prueba de levenne, con un nivel de confianza del 95%.</p>