

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
Gaultheria glomerata (Cav.) Sleumer. “coca - coca”
Ayacucho - 2018.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR LA:

Bach. ORE ZAMORA, Yohana

AYACUCHO – PERÚ

2019

A mi padre Maximo y madre Maruja por brindarme su apoyo, amor, comprensión y por enseñarme afrontar los problemas de la vida, por ser mi ejemplo de lucha y motivación, su apoyo hizo posible lograr una de mis metas, a mis hermanos Danny, Elizabeth y Abigail por los consejos, las motivaciones y el estar siempre conmigo.

AGRADECIMIENTO

A Dios por ser guía y darme la oportunidad de culminar mi estudio brindándome vida, quien es forjador de paz, tranquilidad y luz en la vida de las personas, salud y amor cada día de nuestra vida.

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

A la Facultad de Ciencias de la Salud, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, en especial al “Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos”, a todos los docentes por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional.

Al Mg. QF. Marco Rolando Aronés Jara, por su colaboración, apoyo incondicional y asesoramiento de esta tesis por su dedicación y brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica brindada para la elaboración y ejecución del proyecto.

A los jurados revisores quienes con sus sugerencias, dedicación y aclaraciones desinteresadas participaron en la elaboración del presente trabajo.

A las personas que me apoyaron en la ejecución del presente trabajo de investigación, cuyos esfuerzos se materializan en esta investigación.

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Gaultheria glomerata (Cav.) Sleumer	10
2.3. Estrés oxidativo	13
2.4. Compuestos fenólicos	14
2.5. Flavonoides	16
2.6. Antioxidantes	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	25
3.2. Definición de Población y muestra	25
3.3. Metodología y recolección de datos	26
3.4. Determinación de contenido de fenoles totales	29
3.5. Cuantificación de flavonoides totales	30
3.6. Determinación de la actividad antioxidante	31
3.7. Tipo y diseño de investigación	35
3.8. Análisis de datos	35
IV. RESULTADOS	37
V. DISCUSIÓN	47
VI. CONCLUSIONES	55
VII. RECOMENDACIONES	57
VIII. BIBLIOGRAFÍA	59
ANEXO	65

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Clasificación taxonómica de la <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer “coca - coca”	11
Tabla 2 Antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.	19
Tabla 3 Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET	20
Tabla 4 Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción HAT	20
Tabla 5 Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho – 2018.	39
Tabla 6 Parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho – 2018.	40
Tabla 7 Concentración inhibitoria media (CI ₅₀) del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho - 2018.	45

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Estructura química del fenol	14
Figura 2 Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH)	21
Figura 3 Mecanismo de reacción para el ensayo ABTS	23
Figura 4 Reacción involucrada en el ensayo FRAP	24
Figura 5 Contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer) "coca - coca" Ayacucho - 2018.	41
Figura 6 Porcentaje de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer), "coca – coca" Ayacucho - 2018.	42
Figura 7 Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método ABTS de extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer), "coca - coca" Ayacucho - 2018.	43
Figura 8 Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método FRAP de extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer), "coca - coca" Ayacucho - 2018.	44

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1 Certificado de clasificación taxonómica <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018	67
Anexo 2 Fotografía de las hojas y flores de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	68
Anexo 3 Flujograma de procedimientos a seguir para la determinación de la actividad antioxidante de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018	69
Anexo 4 Esquema para la identificación fitoquímica del extracto atomizado de las hojas <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018	70
Anexo 5 Resultados de la identificación fitoquímica del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	71
Anexo 6 Preparación del extracto hidroalcohólico por filtrado al vacío de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Para la obtención del extracto atomizado. Ayacucho 2018	72
Anexo 7 Metodología para la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018	73
Anexo 8 Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	74
Anexo 9 Promedio de fenoles de cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación los limites superior, inferior y los promedios del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	75
Anexo 10 Protocolo para la determinación del contenido de Flavonoides totales en el extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018	76

Anexo 11	Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	77
Anexo 12	Promedio de flavonoides de cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación, los límites superior, límites inferior y los promedios del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	78
Anexo 13	Resultado de las coloraciones que presentaron los fenoles y flavonoides en el extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	79
Anexo 14	Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	80
Anexo 15	Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante, según el método DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	81
Anexo 16	Porcentaje de la actividad antioxidante de Trolox en DPPH de cada lectura: desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	82
Anexo 17	Porcentaje de la actividad antioxidante de la muestra en DPPH cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	83
Anexo 18	Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH en el extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	84

Anexo 19	Comparación múltiple de la prueba de Duncan de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH según concentración del extracto atomizado y Trolox de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	85
Anexo 20	Prueba de Levene de igualdad de varianza del CI50, mediante captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	86
Anexo 21	Resultado de las coloraciones que presentaron el estudio de DPPH en el extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	87
Anexo 22	Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018	88
Anexo 23	Porcentaje de la actividad antioxidante de Trolox en ABTS de cada lectura: desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	89
Anexo 24	Porcentaje de la actividad antioxidante de la muestra en ABTS cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	90
Anexo 25	Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS en el extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	91
Anexo 26	Comparación múltiple de la prueba de Duncan de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS según concentración del extracto atomizado y Trolox de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	92

Anexo 27	Prueba de levene de igualdad de varianza del CI50, mediante captación del radical ABTS del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). "coca - coca" Ayacucho 2018	93
Anexo 28	Resultado de las coloraciones que presento el estudio de antioxidante ABTS del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). "coca - coca" Ayacucho 2018.	94
Anexo 29	Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). "coca - coca" Ayacucho 2018.	95
Anexo 30	Porcentaje de la actividad antioxidante de Trolox en FRAP de cada lectura: desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). "coca - coca" Ayacucho 2018.	96
Anexo 31	Porcentaje de la actividad antioxidante de la muestra en FRAP cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). "coca - coca" Ayacucho 2018	97
Anexo 32	Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical FRAP en el extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). "coca - coca" Ayacucho 2018.	98
Anexo 33	Comparación múltiple de la prueba de Duncan de la actividad antioxidante mediante captación del radical FRAP según concentración del extracto atomizado y Trolox de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). "coca - coca" Ayacucho 2018.	99
Anexo 34	Prueba de levene de igualdad de varianza del CI50, mediante captación del radical FRAP del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). "coca - coca" Ayacucho 2018.	100

Anexo 35	Resultado de las coloraciones que presento el estudio de antioxidante FRAP en el extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018.	101
Anexo 36	Matriz de consistencia	102

RESUMEN

La finalidad de esta investigación fue evaluar el contenido de fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de la *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca – coca”, el cual se desarrolló en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Las muestras fueron recolectadas en el centro poblado de Huaraca del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, con un tipo de investigación descriptiva. Se realizó el tamizaje fitoquímico, prosiguiendo con la determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides, por los métodos de Folin-Ciocalteu y tricloruro de aluminio (AlCl_3) respectivamente, se continuó determinando la actividad antioxidante por los métodos de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) y FRAP (Poder antioxidante reductor del hierro), analizando asimismo el coeficiente de inhibición al 50%. Los resultados en la identificación de metabolitos secundarios fue la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, triterpenos y/o esteroides, lactonas y/o cumarinas y cardiotónicos. En la cuantificación de fenoles totales fue de 359,4 mgGAE/g de extracto seco y en los flavonoides fue de 22,0 mgRuE/g de extracto seco, en los ensayos de la actividad antioxidante se obtuvo 48,95 mg/g para DPPH, 66,42 mg/g para ABTS y 76,64mg/g para FRAP, con un coeficiente de inhibición al 50% (IC_{50}) de 106,1 $\mu\text{g/mL}$, 169,3 $\mu\text{g/mL}$ y 39,1 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. En conclusión, las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, contiene alto contenido de fenoles totales y bajo en flavonoides, por lo tanto, cuenta con gran actividad antioxidante.

Palabras claves: *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, fenoles totales, flavonoides totales, Antioxidantes, coca-coca.

I. INTRODUCCIÓN

Medicina tradicional debe ser la base para el desarrollo de drogas, ya que esto incluye el conocimiento del valor terapéutico de la flora. Por lo tanto, el conocimiento de las prácticas médicas tradicionales juega un rol crucial para la selección de especies a ser posteriormente consideradas como fuentes potenciales de drogas universalmente aplicables¹.

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, actualmente es evidente que exista una relación entre alimentación y las enfermedades crónico – degenerativas, las cuales también se relacionan directamente con los radicales libres, los cuales están asociados con una serie de patologías que afectan masivamente a la población, esto es debido en gran parte al estrés oxidativo generado².

Los compuestos fenólicos tienen una gran capacidad antioxidante, dentro de esta gran familia pueden encontrarse tres grupos principales: ácidos fenólicos, los polifenoles y los flavonoides, siendo estos últimos el grupo más común. Los antioxidantes de las plantas se deben principalmente a la presencia de compuestos fenólicos, los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidrógenos y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas³.

Son capaces de inhibir procesos de oxidación en alimentos y de envejecimiento celular. La oxidación de grasas, aceites hace que experimenten transformaciones que reducen su calidad nutritiva y se produzcan compuestos volátiles que generan olores y sabores indeseables. Esta oxidación puede ser minimizada por los extractos de las plantas, ya que actúan neutralizando los radicales libres que se forman en la primera etapa de la oxidación y ello permite que puedan sustituir, al menos parcialmente, a los antioxidantes sintéticos, potencialmente tóxicos⁴.

La mayoría de las preparaciones de hierbas se prepararon con las hojas de las plantas (35%), toda la planta (21,25%) y tallos (17,5%). Esto indica que los curanderos locales cuentan con un conocimiento muy bien desarrollado sobre las propiedades de diferentes partes de la planta. En el 60% de los casos se utilizó material vegetal fresco para preparar remedios, que difiere del modo promedio de preparado de hierbas en el Perú. Sólo alrededor del 55% de los recursos se aplicaron por vía oral, mientras que los restantes se aplicaron tópicamente¹.

Las técnicas más utilizadas para determinar la capacidad antioxidante son el DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), ABTS (ácido azino-bis2.2 (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) y FRAP (actividad férrico reductora/poder antioxidante); con la técnica del espectrofotómetro, para el análisis de los métodos se empleó el reactivo patrón Trolox (ácido 6-hidroxil-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) un análogo hidrosoluble de la vitamina E.

El análisis de contenido de fenoles totales se realizó por el método de espectrofotometría de Folin-Ciocalteu, para lo cual se usó ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia, para el contenido de los flavonoides totales se empleó el reactivo tricloruro de aluminio ($AlCl_3$). Utilizando la rutina como el compuesto flavonoide de referencia.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Evaluar el contenido de fenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de la *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. Ayacucho 2018.

1.1.2. Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos presentes en las hojas del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. “coca - coca”
- Cuantificar el contenido de fenoles totales del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. “coca - coca”
- Cuantificar el contenido de flavonoides del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. “coca - coca”
- Evaluar la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. “coca - coca”

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Carvajal⁵, en su estudio evaluó la actividad antioxidante de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca sellowiana. Berg*) analizó el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de los extractos alcohólicos y acuosos de las hojas y los frutos de la Feijoa a través de los ensayos de decoloración del radical ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)); el contenido de fenoles totales mediante el método de Folin - Ciocalteu, y se cuantificó Vitamina C por espectrofotometría. Realizando una comparación de estándares correspondientes; para la Capacidad Antioxidante por el método ABTS (Trolox) y para fenoles totales (Ácido gálico), los resultados expresados; en (mg de ácido gálico (GA)/ g. de muestra), para la actividad antioxidante en (mM Trolox/g muestra) y con la ayuda de métodos estadísticos ANOVA y TUKEY se comprobó al menos uno de los extractos presentan diferente actividad antioxidante. En el ensayo de ABTS, en los extractos acuosos; de las hojas y frutos se obtuvo un valor de 5,43mM Trolox/g y 0,10mM Trolox/g respectivamente, y en los extractos alcohólicos se obtuvo un valor de 0,23mM Trolox/g en los frutos y en las hojas 19,67mM Trolox/g.

Montes⁶, mediante el estudio del contenido fenólico y actividad antioxidante de extractos metanólicos obtenidos de las hojas y los frutos de *Pittosporum pentandrum*, determinó el porcentaje de rendimiento en los extractos de hojas que fue de 15,2% y en el de frutos 13,2%; con un contenido de fenoles totales en el fruto de 5mg de ácido gálico equivalentes/g de extracto, cinco veces superior al obtenido para el extracto de las hojas, cuyo valor fue 1,5 mg de ácido gálico equivalentes/g de extracto; en el caso de los flavonoides fue lo contrario obteniéndose para el extracto de las hojas 1,35mg de rutina equivalente/g de extracto y frutos de 4,15mg de rutina equivalente/g de extracto, en taninos se obtuvo un 4% en las hojas y un 0,28% en los frutos; se determinó la actividad

antioxidante por dos mecanismos de reacción: Los que miden la habilidad secuestradora a los radicales libres y los que evalúan la peroxidación lipídica. En el primer caso se incluyeron los ensayos, DPPH, FRAP y TAOC, mientras que en el segundo caso se incluyó el estudio en ácido linoleico desarrollando los ensayos de FTC y TBA, siendo el extracto de los frutos el que mostro una actividad antioxidante superior al de las hojas, al comparar estos valores con los patrones antioxidantes los extractos mostraron menor actividad en el primer mecanismo y similar a la rutina, quercetina y vitamina C en el segundo.

Sotelo⁷, realizó un estudio sobre la evaluación de la epicatequina, teobromina y cafeína en las cáscaras del cacao (*Theobroma cacao* L.) y su capacidad antioxidante. Empleándose en la extracción etanol y agua en relación (1:1), sin acidificar y acidificado con HCL al 1%, se adecuaron las cáscaras de cacao hasta humedad $8 \pm 1\%$ y partículas menores 0,5 mM. Los extractos se obtuvieron mediante agitación 200 rpm/6 horas y ultrasonido 60 Hz/2 horas, el contenido de polifenoles totales se determinó con el método Folin-Ciocalteu, mediante patrón estándar con ácido gálico, la capacidad antioxidante se determinó mediante ORAC, FRAP y ABTS, se realizó una curva patrón con Trolox para los tres casos, el contenido de epicatequina, teobromina y cafeína se determinó por HPLC. Los resultados obtenidos mostraron que las cáscaras de cacao presentan polifenoles de 16,40 - 23,01 EAG/g, capacidad antioxidante con valores FRAP de 13660,13 - 16904,25 $\mu\text{M TE}/100\text{ g}$, ABTS de 11603,12 - 22961,57 $\mu\text{M TE}/100\text{ g}$ y ORAC de 25150,94 - 34292,71 $\mu\text{M TE}/100\text{ g}$, un contenido de epicatequina 0,2482 - 0,3505 mg g^{-1} , cafeína 0,0209 - 0,0427 mg g^{-1} y teobromina 0,0200 - 0,0375 mg g^{-1} .

Reyna⁸, realizó un estudio sobre la evaluación del potencial antioxidante de la joyapa (*Macleania rupestris*), y aplicación en el procesamiento de alimentos; como materia prima para la elaboración de mermeladas y de jugos; realizó el bioensayo de atrapamiento del radical libre estable 2,2-difenil-1- picrihidracilo, DPPH. Se evaluó el contenido total de compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu. Los análisis realizados a los elaborados alimenticios dan como resultado un potencial de utilización de los frutos de joyapa en el desarrollo de alimentos funcionales. También se demostró que el tratamiento térmico utilizado para la elaboración de los productos no eliminó las características antioxidantes de la especie en estudio.

Escalona⁹, en su estudio evaluó la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de *Tamarindus indica* L. como premisa para su introducción en la medicina complementaria. Determinó las distintas condiciones de extracción como el uso combinado de etanol al 70% como solvente y un tiempo de humectación de 90 minutos, para la obtención de extractos con elevadas concentraciones de metabolitos y una fracción significativa de minerales, entre ellos el selenio. La caracterización de la formulación (extracto fluido) preparada en estas condiciones, evidenció diferencias en las concentraciones de los compuestos mayoritarios en las diversas etapas del ciclo de vida de la planta, observando la mayor acumulación de metabolitos durante la fructificación. El extracto fluido se fraccionó en cuatro preparados, de distinta polaridad y naturaleza química, para la evaluación *in vitro* de su actividad antioxidante y antimicrobiana. Se demostró que el extracto fluido posee una buena actividad antioxidante en los modelos *in vitro* ensayados, en varios de ellos a concentraciones inferiores a sus fracciones. La actividad antimicrobiana, por su parte, se asoció a la acción directa de los componentes presentes en los extractos y no a la estimulación del sistema del complemento.

Salas¹⁰, evaluó la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de los frutos silvestres *gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer (macha macha), *monnina vargassi ferreyra* (condorpausan), *vaccinium floribundum kunth* (alaybilí) y *rubus roseus poir* (frambuesa silvestre); mostro los valores obtenidos en los extractos de los frutos de Frambuesa silvestre, Macha macha, Alaybilí y Condorpausan obteniéndose una capacidad antioxidante de 25010,87; 23328,90; 22902,90 y 21924,65 (μg Eq* Trolox/ 100 g fruto fresco) respectivamente; en lo que respecta al contenido de fenoles totales fue de 5370,42; 5187,77; 4817,80 y 4707,21 (mg AGE/ 100 g fruto fresco) respectivamente; en cuanto al contenido de antocianinas totales fue de 2013,967; 1033,184; 914,875 y 862,006 (mg cianidina-3-glucósido/100 g fruto fresco) respectivamente. En conclusión, se destaca el alto nivel de capacidad antioxidante del fruto *Rubus roseus* Poir (Frambuesa silvestre) permite entender como el fruto con mayor captación de radicales libres, de igual manera destacó por su alto contenido de fenoles totales y antocianinas totales, no obstante, los frutos silvestres: *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer (Machamacha), *Vaccinium floribundum kunth* (Alaybilí) y *Monnina vargassi Ferreyra* (Condorpausan) demostraron su nivel elevado de la capacidad antioxidante, fenoles totales y antocianinas totales.

Carpio y Figueroa¹¹, determinan el efecto de la adición de goma arábica y maltodextrina en el contenido de Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante en el extracto de sancayo (*Corryocactus brevistylus*) liofilizado, preparándose en total 9 muestras del extracto con una concentración de goma arábica y maltodextrina al 0.5%, 1% y 2% (P/V), en concentraciones diferentes MD75%/GA25%; MD50%/GA50%; MD25%/GA75% (P/P) y 1 muestra patrón solamente extracto de sancayo liofilizado, se determinó el contenido de Fenoles Totales mediante el método de Folin-Ciocalteu y la Capacidad Antioxidante mediante el método de DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl), en el extracto liofilizado, luego de determinar el contenido de Fenoles Totales y la Capacidad Antioxidante de las muestras (1A,1B,1C,2A,2B,2C,3A,3B,3C, Patrón), se observó que la muestra 1A (75% de maltodextrina y 25% de goma arábica en una proporción de 0,5% en extracto de sancayo) presento un mejor contenido de Fenoles Totales con un valor promedio de 5,9876 mgGAE/g P.S y mejor Capacidad Antioxidante con un valor promedio de 293,8365 μm equivalente Trolox/g P.S. Además, se realizó un análisis proximal en la muestra 1A (75% de maltodextrina y 25% de goma arábica en una proporción de 0,5% en extracto de sancayo), notándose valores superiores en comparación al sancayo fresco debido a una concentración de sus componentes por el proceso de liofilización.

Huaccho¹², evaluó la capacidad antioxidante hidrofílica, el contenido de compuestos fenólicos, de antocianinas y de los carotenoides de 84 cultivares de mashua procedentes de Cusco. Los resultados indican que los cultivares de mashua presentan una amplia y considerable capacidad antioxidante hidrofílica medida por tres métodos de ensayo diferentes: ABTS, FRAP y ORAC (20,6 – 128,2; 22,7 – 173,2 y 35,1 – 158,8 $\mu\text{mol TE/g}$ (muestra seca) respectivamente). Con una correlación entre la capacidad antioxidante medida por los métodos ABTS y FRAP ($r^2 = 0,834$) siendo moderada entre los métodos ABTS y ORAC, FRAP y ORAC ($r^2 = 0,605$ y $0,500$, respectivamente). En el contenido de compuestos fenólicos varió entre 5,5 y 16,7 mg Ac. Gálico Eq. /g muestra seca, el de antocianinas entre 0,09 y 2,68 mg cianidina-3-glucósido equivalente (CGE)/g muestra seca. (Sólo se detectó en 17 cultivares) y el de carotenoides entre 0,48 y 15,09 mg β -caroteno/100g (muestra seca). Los cultivares con coloración morada destacaron en compuestos fenólicos y antocianinas y los de coloración amarilla en contenido de carotenoides. Los compuestos fenólicos mostraron entre una moderada y buena correlación con las diferentes capacidades antioxidantes

($r^2 = 0,44 - 0,75$) siendo entre moderada y baja la correlación entre la capacidad antioxidante y las antocianinas ($r^2 = 0,42 - 0,67$). Esto indicaría que los compuestos fenólicos contribuyen a la capacidad antioxidante del tubérculo de manera considerable.

Castañeda y Pazos¹³, mediante el estudio Fitoquímico y Evaluación de la Capacidad Antioxidante *in vitro* del Extracto Hidroalcohólico del Fruto de *Gaultheria Erecta*; en el extracto hidroalcohólico de los frutos se realizó el análisis fitoquímico preliminar, determinado la presencia de metabolitos activos tales como, azúcares reductores, lactonas, polifenoles, aminoácidos, flavonoides y antocianinas. Así también, se demostró la capacidad antioxidante, considerando que el coeficiente de inhibición (CI_{50}) para reducir en un 50% la concentración del radical 2,2 difenil -1- picrilhidracilo (DPPH) fue de 12,28 $\mu\text{g/mL}$ a diferencia de la vitamina C que fue de 14,07 $\mu\text{g/mL}$, con el valor $p = 0,88$ ($p > 0,05$), lo que significa que la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Gaultheria erecta* es similar al patrón (vitamina C), lo cual se debe a que el fruto es rico en antocianinas, metabolitos secundarios, con propiedades antioxidantes. Finalmente se demostró que el porcentaje de captación de 2,2- difenil-1- picrilhidrazil (DPPH) del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Gaultheria erecta* es mayor, a medida que aumenta la concentración y el tiempo de exposición ($p < 0,05$).

Sotacuro¹⁴, mediante el estudio sobre caracterización fisicoquímica y concentración de antocianinas en el fruto de lacca lacca (*Gaultheria Glomerata* (Cav.) Sleumer"; mostro un análisis de la pigmentación, por el método de pH diferencial, determinó una alta presencia de antocianinas, y fue de 7,10g /100 g en el tejido del fruto fresco en estado maduro con pH de 3,01 y 6,98 g /100 g en el tejido del fruto fresco en estado pintón con un pH de 3,56. Y en un análisis por el método HPLC - MS/MS, confirmó la presencia de 10 picos y los pesos moleculares permitieron conocer las antocianinas presentes en Lacca lacca y su porcentaje de participación de las antocianinas totales, los cuales fueron: petunidina-3- glucósido (24,24%), delphinidina-3-glucósido (23,4%), malvidina-3-glucósido (21,6%), cianidina-3-glucósido (10, 18%), petunidina-3-rutinósido (7, 16%), malvidina-3-rutinósido (4,97%), cianidina-3-rutinósido (3,72%), delphinidina-3-rutinósido (2,63%), peonidina-3- glucósido (1,13%) y peonidina-3-rutinósido (0,97%). De los seis tipos de antocianinas de interés de uso agroindustrial se ha encontrado cinco tipos de antocianinas en el fruto de Lacca lacca por lo cual el

fruto es importante fuente de antocianinas de uso agroindustrial. El análisis fisicoquímico mostró que, en estado pintón, el fruto de *Lacca lacca*, contiene: humedad 80,52%; ceniza 2,09%; proteína 0,84%; grasa 1,09%; fibra 2,86%; carbohidratos 12,6%; ácido (exp. en ácido cítrico) 0,03; pH 3,56 y sólidos solubles 5,78%. En cambio, en estado maduro, contiene: humedad 78,49%; ceniza 1,87%; proteína 0,90%; grasa 0,91%; fibra 2,69%; carbohidratos 15,14%; ácido (exp. en ácido cítrico) 0,042; pH 3,01 y sólidos solubles 6,03%.

Prado¹⁵, determinó el efecto cicatrizante de los flavonoides aislados del extracto hidroalcohólico de las flores de *Agave americana* "cabuya"; mostro que en el análisis cromatográfico y espectral se identificaron flavonoides y rutina. El efecto cicatrizante se determinó mediante el método tensiométrico administrándose flavonoides aislados de las flores de *Agave americana* a concentraciones de 0,2; 0,5 y 1% y comparados frente al estándar Dermaclín Plus. El mayor porcentaje de efecto cicatrizante se observó con la concentración de 0,5%, alcanzando un 67, 1 %. El porcentaje de efecto cicatrizante de los flavonoides a la concentración de 0,5% con un 67,1% fue significativamente mayor que el estándar Dermaclín Plus ($p < 0,05$), y al 1% con un 63,2%, estadísticamente similar ($p > 0,05$). Se concluye que los flavonoides aislados del extracto hidroalcohólico de las flores de *Agave americana* "cabuya" poseen efecto cicatrizante lo que confirma su uso tradicional y representa una buena alternativa en la curación de heridas.

Yangali¹⁶, en su estudio de la Actividad antioxidante de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "Kiwicha", determinó la actividad antioxidante de las variedades taray, morocho ayacuchano, centenario y Oscar Blanco, proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigación y Experimentación Agraria - Ayacucho. Los compuestos fenólicos fueron extraídos por soxhlet, cuantificados por el método de Folin - Ciocalteu y la actividad antioxidante por el método de la actividad secuestradora del (1.1- difenil-2 picrihidracilo), las diferencias de actividad fueron contrastadas por el análisis de varianza. La variedad taray mostró mayor contenido de compuestos fenólicos con un 80,69 mg%, seguido de morocho ayacuchano con 79,72 mg%, centenario con 64,12 mg% y Oscar Blanco 54,42 mg% respectivamente. Las variedades morocho ayacuchano y taray mostraron mejor actividad antioxidante con un 42% y 38,9 % de capacidad secuestradora respectivamente.

Almeyda¹⁷, determinó la concentración de fenoles totales y la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay". Se recolectó las hojas en el centro poblado de Anchac - Wasi (Huaraca) del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. El extracto atomizado se obtuvo en el atomizador Mini Spray Dryer B-290 a partir del concentrado del extracto hidroalcohólico, del cual se evaluó sus características organolépticas y fisicoquímicas, así como la cuantificación de los compuestos fenólicos totales por el método Folin-Ciocalteu y el porcentaje de actividad antioxidante por el método de DPPH. El extracto atomizado presentó un color marrón claro, olor sui géneris, sabor amargo, aspecto resinoso, solubilidad en metanol y, pH de 6,34; humedad de 6,70. %, cenizas de 5,21% y un rendimiento de 6,8%. De la cuantificación de compuestos fenólicos totales se pudo determinar un promedio de $15,9 \pm 0,5$ mgEAG/g extracto atomizado y un nivel de significancia de $p > 0,05$ entre el porcentaje de actividad antioxidante del ácido gálico y el extracto atomizado a diferentes concentraciones.

Huayanay¹⁸, por medio del estudio de la actividad antioxidante y antiinflamatoria; del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". Se empleando la técnica *in vitro* del DPPH y el modelo *in vivo* de edema plantar inducida por carragenina en ratas Wistar. Se ensayó concentraciones de 1, 2 y 3% en ungüentos base como vehículo semisólido usando el estándar de referencia diclofenaco gel 1%. El extracto hidroalcohólico contiene fenoles y taninos, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, triterpenos y/o esteroides y aminoácidos. La concentración de extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" con mayor actividad antiinflamatoria fue al 3%, con un porcentaje de desinflamación del 84,6% {porcentaje de inflamación de 15,4%) y con un ABC de 6,214 mlIt². La concentración de extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" con mayor actividad antioxidante fue a 100 µg/mL, con un porcentaje de 63,9%. Se concluye que tiene poca actividad antioxidante *in vitro* pero buena actividad antiinflamatoria *in vivo* estadísticamente similar al diclofenaco por lo que constituyen una fuente potencial para el tratamiento antiinflamatorio tópico.

Villanueva³, evaluó el contenido de betalaínas y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua" por medio del uso de los espectros UV-visibles de absorción, cromatografía en capa fina (TLC)

y DPPH, respectivamente. Los extractos etanólicos de quinua revelaron la presencia de compuestos fenólicos mas no de betalaínas de acuerdo a los espectros UV-visibles de absorción que presentaron valores entre 207 a 300 nm y a la TLC por el color de manchas reveladas con luz UV y cloruro férrico al 5%. Los mayores porcentajes de capacidad antioxidante fueron a la máxima concentración evaluada de 300 g/mL a los 30 minutos, correspondientes a las accesiones: 24 (roja) con 55,61 %; 22 (negra) con 54,84%; 4 (blanca) con 52,01%; 25 (roja) con 53,88% y 6 (negra) con 50,34%; congruentes a los de IC50 (µg/mL) con 224,51; 228,44; 255,04; 238,13 y 285,99 µg/mL respectivamente, que obtuvieron los valores más bajos lo cual indica que requirieron menor concentración de extracto para reducir en 50 % al DPPH. Por lo tanto estas accesiones ostentan de mayor y mejor capacidad antioxidante entre las accesiones estudiadas. Las accesiones de quinua estudiadas con las técnicas del espectro UV-visible y cromatografía en capa fina, utilizando extracto etanólico no contienen betalaínas, sólo compuestos fenólicos a los cuales se le atribuye la capacidad antioxidante.

2.2. *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer

2.2.1. Usos tradicionales de la planta

En las zonas en las cuales se pueden encontrar esta planta se tiene referencia relatos de usos según los pobladores, los cuales señalan que dicha planta es usada por dolores articulares o de músculos, por golpes o caídas sufridas ya que realizan preparados con las hojas machacadas y/o también uso en infusiones.

Se tiene referencia bibliográfica sobre el uso del aceite esencial obtenido de las hojas del género de las *Gaultherias* las cuales cuentan con propiedades analgésicas, antirreumáticas y antiartríticas, antiespasmódicas, antisépticas, aromáticas, y propiedades astringentes. También actúa como carminativo, diurético y emenagogo¹⁹.

- **Alivio del dolor:** el beneficio de salud más popular del aceite son sus efectos para aliviar el dolor. Puede ayudar a aliviar el dolor de cabeza, calambres musculares, dolor en las articulaciones etc¹⁹.
- **Alivio para el reumatismo y la artritis:** el aceite de gaultheria estimula la circulación sanguínea alrededor de los tejidos afectados y los músculos, ayudando a limpiar las obstrucciones de sangre¹⁹.

- También alcanza el torrente sanguíneo, donde ayuda a estimular y aumentar la micción, acelerando la eliminación de ácido úrico y otras toxinas¹⁹.
- **Ayuda a prevenir infecciones:** el aceite de puede ser crítico para las bacterias, protozoos y hongos. Sin embargo, no es recomendable tomar el aceite por vía oral para combatir infecciones en los órganos internos, ni se recomienda usarse en heridas abiertas¹⁹.
- **Promueve la salud de la piel y el cabello.** Ayuda a tonificar la piel y prevenir el acné (si se utiliza en forma muy diluida). También previene la caspa y ayuda a prevenir la caída del cabello¹⁹.

2.2.2. Clasificación taxonómica

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca-coca”:

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: DILLENIIDAE
ORDEN	: ERICALES
FAMILIA	: ERICACEAE
GÉNERO	: <i>Gaultheria</i>
ESPECIE	: <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer
NOMBRE COMÚN	: “coca- coca”

Fuente: Constancia emitida por el Jefe del Herbario San Marcos (USM) del MUSEO DE HISTORIA NATURAL, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **(Anexo 01)**

Nombres vernaculares

Gaultheria glomerata, descrita por primera vez por Linnaeus en 1753.

La clasifican por idioma; Colombia: pata de gallo (Nariño). Venezuela: cachuito (Mérida); borrachera (Trujillo). Ecuador: rapadara que mada (Cañar); pasa (Pichincha)²⁰.

Perú: Ruun'ccoto (Apurímac); pampa macho macha (quechua); (Cuzco); mullaca negra (La Libertad); mullaca (San Martín)²⁰.

2.2.3.Descripción botánica

2.2.3.1. Características morfo anatómicas

Las características morfo anatómicas representativas de esta especie de *Gaultheria*, es el de poseer una raíz, rizomatosa postrada, esparcido; Tallos, maduros y ramitas terete, estriado, corto piloso; Corteza, marrón rojizo; Brotes teretes, ovados, de color marrón rojizo; Hojas, coriáceas, ovadas, ápice agudo redondeado, nervadura media, nervios laterales (3-4 por lado); Inflorescencia, axilar, racemosa, congestionada en la antesis, las 7-15 flores generalmente superpuestas ampliamente, a menudo parcialmente ocultas debajo de las hojas; Flores, con cáliz, glabras, lóbulos ovales-trianguulares, cilioladas; Corola subterete, glabro, piloso corto en la base con pelos blancos, o distalmente dorado a rufo-estrigosa solo a lo largo de los ángulos opuestos de los lóbulos, blancos, rosados o rosados cuando están frescos, lóbulos triangulares; estambres de 3-4 mm de largo; filamentos de 2.6-3.3 mm de largo; Fruto dehiscente, por hendiduras relativamente largas; ovario globoso, básicamente glabro o a veces muy débilmente piloso distalmente; estilo de 3-4 mm de largo, glabro. Cáliz de frutos 6-9 mm dm., Azul-negro²⁰.

2.2.4.Distribución geográfica

La *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca – coca”, crece de forma silvestre en las alturas de las zonas alto andinas, en determinadas etapas de vegetación. En nuestra localidad lo podemos encontrar en el poblado de Huaraca, en la quebrada Marcapampa, carretera los libertadores, pasando la quebrada a 14 Km lineales al sur oeste de Vinchos a 3650 msnm. es un componente común de las zonas de elevación en el Perú y Bolivia, también es cultivada en jardines domésticos por sus propiedades medicinales²¹.

2.2.5.Composición química

Algunos estudios solo muestran la composición química en la familia de las *gaultheria*, sin tener referencia aun de la especie de *gaultheria glomerata*, de esto nos basamos en el estudio de la extracción del aceite esencial de *gaultheria procumbens* tiene un aroma dulce y fresco, similar a la menta, es picante, pero no desagradable. Tiene un color amarillo o rosado pálido. El aceite de *gaultheria* se compone sobre todo de salicilato de metilo (de un 85 a 99 por ciento), que representa casi todas las increíbles propiedades curativas de este aceite esencial.

También contiene guaiadiene, a-pineno, mirceno, delta-careno, limoneno y delta-cadineno¹⁹.

2.3. Estrés oxidativo

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen un desbalance entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno²².

Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto, se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos²².

2.3.1. Radicales Libres

Los radicales libres (RL) son átomos o grupos de átomos que tienen uno o más electrones desapareados lo cual los hace altamente inestables y reactivos. Estos radicales recorren nuestro organismo deseando robar un electrón de las moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica por medio de reacciones de óxido-reducción⁵.

Una vez que el RL ha conseguido robar el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un nuevo RL, por quedar con un electrón desapareado; iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células; estas reacciones en cadena se combaten con la acción de los antioxidantes, los cuales neutralizan los átomos de oxígeno⁵.

La vida biológica media del RL es de microsegundos; pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un estrés oxidativo que puede conducir a diversas enfermedades⁵. Tales como envejecimiento, problemas del sistema cardiovascular (arterosclerosis), problemas en el sistema nervioso, daño genético (mutaciones y cánceres)⁵.

Los radicales libres del oxígeno se clasifican de la forma siguiente²²:

2.3.1.1. Radicales libres inorgánicos o primarios

Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de éste y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidroxilo y el óxido nítrico^{5,22}.

2.3.1.2. Radicales libres orgánicos o secundarios

Se pueden originar por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, poseen una vida media un tanto más larga que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas que actúan como radicales son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre^{5,22}.

2.3.1.3. Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno

Se incluye un grupo de especies químicas que, sin ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, los hidroperóxidos orgánicos, etc^{5,22}.

2.4. Compuestos fenólicos

El término «compuestos fenólicos» engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombres populares del hidroxibenceno, unidos a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente, algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenoles no son polifenoles, sino monofenoles²³.

La estructura química de los compuestos fenólicos es importante comenzar con el fenol, que es la molécula básica. El fenol se compone de un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH). La presencia del anillo aromático hace que los ácidos débiles, generando un efecto inductivo en el hidrógeno del grupo hidroxilo. El anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes²⁴.

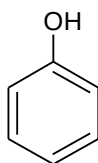


Figura 1. Estructura química del fenol

2.4.1. Clasificación de compuestos fenólicos

- **Fenoles simples:** Los fenoles simples son compuestos que tienen dos (en las posiciones 1,2, 1,3 o 1,4) o tres (en las posiciones 1,3,5 o 1,2,3) grupos hidroxilo en el anillo aromático²⁴.
- **1111Fenoles ácidos:** Los ácidos fenólicos consisten en dos grupos: los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. Es importante recalcar que la presencia de más de un grupo hidroxilo y una mayor separación del grupo carbonilo al anillo aromático aumentan la capacidad antioxidante de estos compuestos²⁴.
 - ácidos hidroxibenzoicos, son compuestos que presentan un grupo carboxílico (grupo ácido) y grupos hidroxilo (uno o más) en un anillo aromático²⁴.
 - ácidos hidroxicinámicos, se caracteriza por la presencia del grupo $\text{CH} = \text{CH}-\text{COOH}$ en remplazo del grupo COOH presente en el ácido hidroxibenzoico. El doble enlace carbono ($\text{C} = \text{C}$) de la cadena aumenta la resonancia química, que puede ser descrita como una deslocalización de los electrones en los enlaces π estabilizando los radicales libres y por lo tanto incrementa la capacidad antioxidante de la molécula²⁴.
- **Cumarinas:** contienen un anillo aromático unido a un heterociclo oxígeno. Se consideran compuestos fenólicos, en particular, cuando un grupo hidroxilo está unido a un esqueleto de estructura cumarina²⁴.
- **Xanthonas, estilbenos y benzofenonas:** Sus estructuras se relacionan, ya que tienen dos anillos aromáticos unidos por cetona, heterocíclicas o grupos vinilo²⁴.
- **Quinonas:** se caracteriza por un anillo diona completamente conjugado. Pueden ser clasificadas como ubiquinonas, con la coenzima Q10²⁴.
- **Betacianinas:** son pigmentos presentes en los alimentos como la remolacha²⁴.
- **Lignanós y ligninas:** Los lignanos compuestos fenólicos dímeros, y son derivados de fenilalanina y alcoholes cinámicos; Las Ligninas son polímeros fenólicos complejos considerada como la segunda más abundante biopolímeros²⁴.

2.5. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico)²⁵.

Se considera que su estructura deriva de la γ -cromona (o benzo- γ -pirona) con un fenilo en posición 2. Así pues, son 2-fenil- γ -cromonas. De los tres anillos, el A se biosintetiza a través de la ruta de los policétidos y el B y la unidad C3 proceden de la ruta del ácido shikímico. Sustancias sólidas cristalizadas de color blanco o amarillento²⁶.

Sus heterósidos son solubles en agua caliente, alcohol y disolventes orgánicos polares, siendo insolubles en los apolares²⁶.

2.5.1. Actividad farmacológica

Los flavonoides destacan por su baja toxicidad, presentando en general actividad sobre el sistema vascular con acción vitamínica P (efecto protector de la pared vascular, debido a la disminución de la permeabilidad y al aumento de la resistencia de los capilares)²⁶.

Los flavonoides retiran oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células²⁵.

Asimismo, tienen efecto antioxidante, pueden inhibir la peroxidación lipídica, poseen efectos antimutagénicos y tienen la capacidad de inhibir diversas enzimas. Ejercen otras acciones: diurética, antiespasmódica, antiulcerosa gástrica y antiinflamatoria²⁶.

2.5.2. Clasificación de los flavonoides

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales²⁵.

Podemos clasificarlos de la siguiente manera²⁶:

- **Flavanos**, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C.

- **Flavonoles**, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
- **Flavonas**, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.
- **Antocianinas**, que tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.

Se pueden destacar algunos flavonoides²⁷:

- **Citroflavonoides**: la quercitina es de color amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócoles, cerezas, uvas o repollo rojo. La hesperidina se encuentra en los hollejos de las naranjas y limones. La naranjina da el sabor amargo a frutas como la naranja, limón y toronja, y el limoneno se ha aislado del limón y la lima.
- **Flavonoides de la soja o isoflavonoides**: están presentes en los alimentos con soja tales como porotos, tofu, tempeh, leche, proteína vegetal texturizada, harina, miso. Los dos más conocidos son la genisteína y la daidzeína.
- **Proantocianidinas** se localizan en las semillas de uva, vino tinto y extracto de corteza del pino marino.
- **Antocianidinas**: son pigmentos vegetales responsables de los colores rojo y rojo-azulado de las cerezas.
- **Ácido elágico**: es un flavonoide que se encuentra en frutas como la uva y en verduras.
- **Catequina**: el té verde y negro son buenas fuentes.
- **Kaemferol**: aparece en puerros, brócoles, rábano, endibias y remolacha roja.

Tres características estructurales son importantes para su función: a) La presencia en el anillo B de la estructura catecol u O-dihidroxil; b) La presencia de un doble enlace en posición 2,3; c) La presencia de grupos hidroxilo en posición 3 y 5. La quercitina presenta las tres características, mientras que la catequina solo presenta la segunda y la diosmetina la primera²⁶.

2.6. Antioxidantes

Los antioxidantes neutralizan a los radicales libres donando uno de sus propios electrones, acabando con la reacción de robo de electrones. A pesar de esto no

se convierten en radicales libres porque son moléculas muy grandes y muy estables²⁸.

La FDA ha definido a los antioxidantes como sustancias usadas para preservar alimentos, retardando el deterioro, rancidez o decoloración causada por la oxidación. La importancia de un antioxidante depende de su concentración, del medio donde actúa y de su habilidad para interaccionar con sistemas regeneradores²⁸.

Los antioxidantes naturales (hidrosolubles y liposolubles) pueden funcionar como compuestos reductores, interrumpen la formación de radicales libres, inhiben la formación de oxígenos libres e inactivan los metales pro-oxidativos. Los radicales libres se forman en el organismo mediante la respiración aeróbica y existen en diferentes formas como: anión superóxido, hidroxilos, peróxidos, y alcóxilos³.

2.6.1. Mecanismo de acción

Los polifenoles se han encontrado para ser fuertes antioxidantes primarios por mecanismo de ruptura de cadena, que puede neutralizar los radicales libres donando átomos de hidrogeno o electrones a los radicales libres resultando la formación de productos más estables²⁹.

Cuando estos antioxidantes, por ejemplo los flavonoides (FI-OH), están presentes en cantidades traza, pueden retardar o inhibir el paso de iniciación al reaccionar con un radical y, como consecuencia, reducir los radicales ($R\bullet$) a un no-producto radical (RH), convirtiéndose ellos mismo en un radical oxidado (FI-O $\bullet$)²⁹.

2.6.2. Clasificación de los antioxidantes

Los antioxidantes pueden ser de dos tipos¹¹:

- a) **Los Antioxidantes endógenos:** Son las enzimas (proteínas) con capacidad antioxidante que no se consumen al reaccionar con los radicales libres y son dependientes de sus cofactores tales como el cobre, el hierro, el zinc, el magnesio y selenio¹¹.
- b) **Los Antioxidantes exógenos:** Son las moléculas que provienen de la dieta, y se consumen al reaccionar con los radicales libres, por lo que deben ser reemplazados regularmente¹¹.

Estos se clasifican, según su naturaleza, en dos grupos: antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos

- a) **Antioxidantes Enzimáticos:** Los antioxidantes enzimáticos incluyen enzimas capaces de eliminar o neutralizar especies reactivas de oxígeno, especies reactivas de nitrógeno o sus intermediarios¹¹.
- b) **Antioxidantes no Enzimáticos:** Permiten la inhibición de la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN), la inhibición de la unión de iones metálicos necesarios para la formación de ERO y la regulación de la actividad antioxidante llevándose a cabo a través de múltiples cascadas¹¹.

Tabla 2. Antioxidantes Enzimáticos y no Enzimáticos¹¹.

Endógeno	Antioxidantes Enzimáticos	Ubicación Celular	Propiedades
	Mn Superóxidodismutasa	Mitocondria	Dismuta peróxido radicales
	Cu-Zn Superóxidodismutasa	Citosol	Dismuta superóxido radicales
	Glutación (GHS) peroxidasa	Citosol y Mitocondria	Remueve H ₂ O ₂ e hidroperóxidos orgánicos
	Catalasa	Citosol y Mitocondria	Remueve H ₂ O ₂
Exógeno	Antioxidantes No Enzimáticos	Ubicación Celular	Propiedades
	Vitamina E	Compuestos fenólicos solubles en lípidos; localizada en membranas.	Principal antioxidante que irrumpe la cadena de peroxidación lipídica.
	Vitamina C (ácido ascórbico)	Soluble en agua; localizada en Citosol.	Neutraliza una amplia variedad de especies reactivas de oxígeno (ERO) en fase acuosa; regenera la vitamina E.
	Ácido lipoico	Tiol endógeno; localizado tanto en la fase acuosa como en la lipídica.	Interviene en el reciclado de vitamina C; puede ser buen sustituto de GSH (glutación reducido).
	Ubiquinonas	Derivados de quinona solubles en lípidos; localizados en membrana.	Las formas reducidas son antioxidantes eficientes.
	Carotenoides	Soluble en lípidos; localizados principalmete en las membranas.	Antioxidantes; reducen la peroxidación lipídica.

Fuente: Powers SK. y Lennon SL³⁰.

2.6.3. Medición de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de un compuesto puede evaluarse *in vitro* por medio de experimentos sencillos que examinan directamente dicha habilidad y que a la vez evalúan el posible efecto prooxidante sobre diferentes moléculas. Estos ensayos también pueden alertar sobre posibles efectos dañinos de los compuestos químicos³¹.

La mayoría de los métodos para determinar actividad antioxidante consisten en acelerar la oxidación en un sistema lipídico.

Tabla 3. Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción ET³².

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

Fuente: Huang et al³³.

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 HAT³².

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)	

Fuente: Huang et al³³.

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

Evaluaron la actividad de compuestos específicos o extractos usando el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH[•]) en una solución metanólica. La reducción del DPPH[•] se monitorea por la disminución en la absorbencia a una

longitud de onda característica. En su forma de radical libre, el DPPH• absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece^{3,32}.

La molécula 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) es conocido como un radical libre debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrogeno, el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes³⁴.

En consecuencia, la desaparición del DPPH• proporciona un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales. El modelo que explica la actividad de un compuesto como antirradical se ejemplifica con la siguiente ecuación^{3,32}.

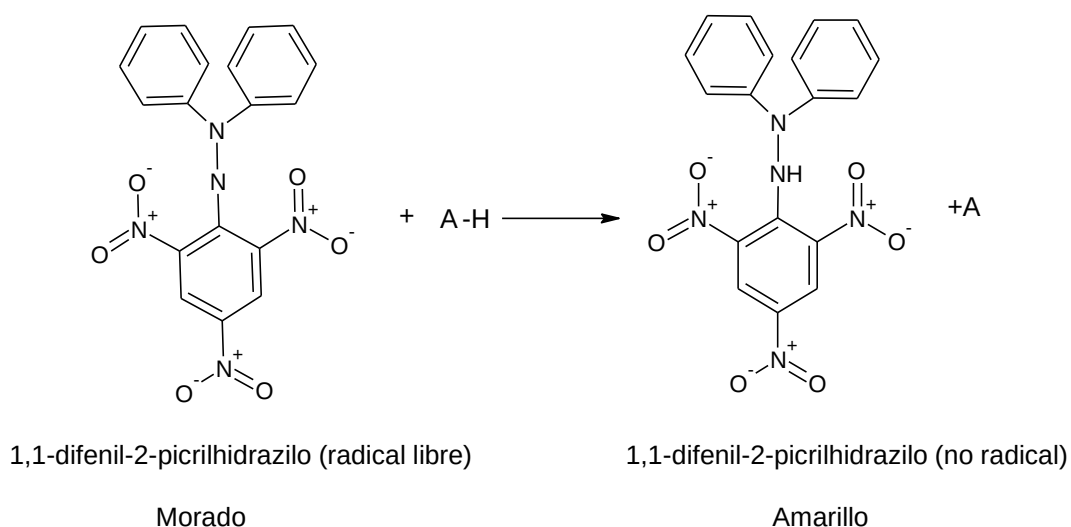


Figura 2. Mecanismo de reacción del DPPH con sustancias antioxidantes (AH)³⁴

Donde AH es un antioxidante que actúa como antirradical donando átomos de hidrógeno, dando como resultados radicales con estructuras moleculares estables que detendrán la reacción en cadena, tal es el caso de los fenoles. El nuevo radical formado (A) puede interactuar con otro radical para formar moléculas estables (DPPH-A, A-A). La reacción entre el DPPH• y un compuesto depende de la conformación estructural del mismo^{3,32}.

Dato la mayoría de los estudios expresan resultados como el valor de la concentración máxima de la media inhibitoria (IC_{50}), definido como la cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50%³⁴.

2.6.5. Método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

El radical $ABTS^{•+}$ se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}C$) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical $ABTS^{•+}$ se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ($\pm 0,1$) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción)³¹.

Las muestras filtradas (antocianos) se diluyen con etanol hasta que se produce una inhibición del 20 al 80%, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 20 μL de la muestra. A 980 μL de dilución del radical $ABTS^{•+}$ así generado se le determina la A_{754} a $30^{\circ}C$, se añade 20 μL de la muestra (dilución de antocianos) y se mide de nuevo la A_{754} pasado 1 minuto. La absorbancia se mide de forma continua transcurridos 7 minutos³¹.

El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensaya a una concentración de 0-15 μM (concentración final) en etanol, en las mismas condiciones, lo que se hace también con ácido ascórbico (0-20 mg/100 mL) ³¹.

Los resultados se expresan en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox) y en VCEAC (actividad antioxidante equivalente a vitamina C), en este último caso por tratarse de alimentos³¹.

La técnica mejorada para la generación del radical catión ABTs, implica la producción directa del cromóforo ABTs verde-azul a través de la reacción entre ABTs y el persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$)³⁴.

Este presenta tres máximos de absorción a las longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTs. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión ABTs está determinado en función de la concentración y el tiempo; así como valor correspondiente usando el Trolox como estándar, bajo las mismas condiciones³⁴.

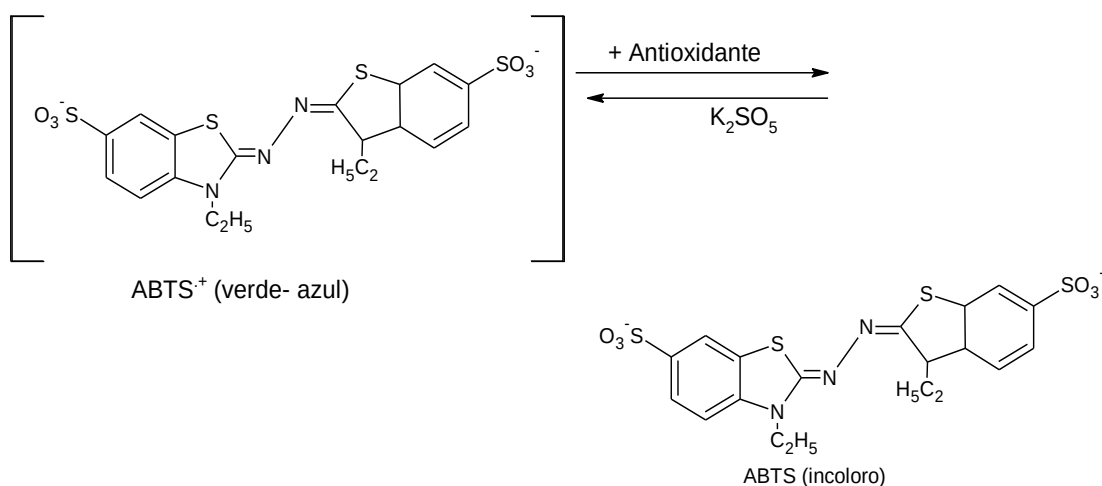


Figura 3. Mecanismo de reacción para el ensayo ABTS³⁴.

2.6.6. Método FRAP (Poder antioxidante reductor del hierro)

Se basa 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-tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado¹².

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 va a poder ser reducido por productos con potenciales redox menores a 0,7 V (potencial redox del Fe^{3+} - TPTZ)¹².

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 distintas^{5,12}.

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 antioxidantes^{5,12}.

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, causando la formación de un complejo ferroso-tripiridil-s-triazina coloreado (Fe^{2+} - TPTZ), que absorbe a una longitud de onda de 593 nm^{12,32}.

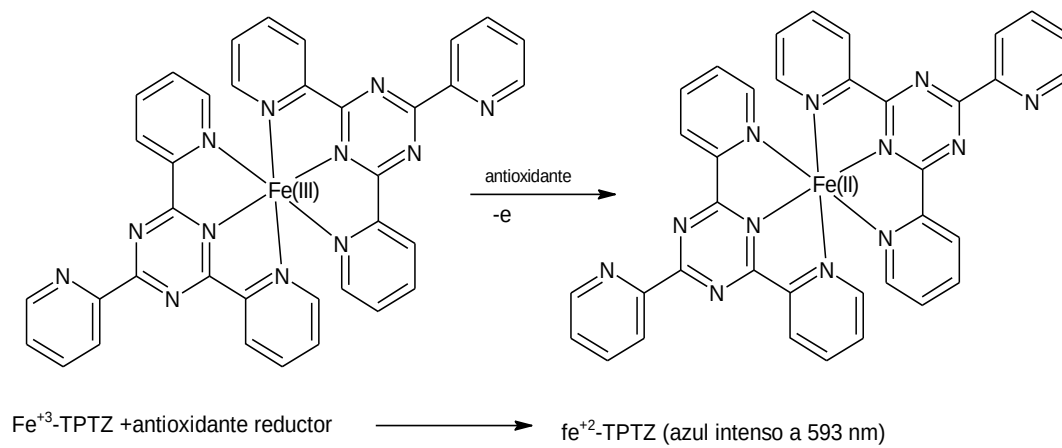


Figura 4. Reacción involucrada en el ensayo FRAP^{6,12}.

El patrón utilizado para comparar los resultados será el trolox.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación y procesamiento de las muestras se ejecutó en el laboratorio de 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.

3.2. Definición de Población y muestra

3.2.1. Población

Las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer que crecen en zonas áridas, del centro poblado de Huaraca, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga departamento de Ayacucho.

3.2.2. Criterios de inclusión y exclusión

3.2.2.1. Inclusión

Las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, en buen estado y enteras.

3.2.2.2. Exclusión

Las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer que estén dañadas, quemadas o en mal estado.

3.2.3. Muestra

De 2 kg de hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer Recolectadas en el centro poblado de Huaraca del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a una altura de 3 129 m.s.n.m.

3.2.4. Unidad de análisis

40g de extracto seco de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca – coca”

3.2.5. Sistema de muestreo

Libre por conveniencia

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Recolección de la muestra

La muestra de las hojas de la *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca – coca”, se recolectó en estado de madurez en horas de la mañana y transportada en bolsas a los laboratorios de la Escuela de Farmacia. Se secó a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, sombreado en tendeles de papel bond, removiendo el vegetal cada 24 horas para evitar su descomposición, por un periodo de ocho días según las directrices OMS³⁵.

La clasificación de la planta fue realizada por el Mg. Asunción A. Cano Echevarria, de acuerdo al sistema de clasificación de Cronquist 1988 (Anexo 1)

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico

Luego del secado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer se redujo el tamaño de partícula utilizando un mortero, hasta obtener un pulverizado uniforme, luego se pesa 20 g de muestra para ser humectada en un frasco ámbar para su maceración, cubriéndolo con alcohol de 70° hasta una altura de 1 -2 cm por encima de la muestra, durante 24 horas en el agitador magnético, Luego del tiempo de humectación se transfirió la muestra al equipo de filtrado al vacío, moviendo constantemente la muestra para extraer la mayor cantidad posible, se recibió el filtrado y se guardó en un frasco cubriendo con papel aluminio³⁶.

3.3.3. Obtención del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer)

Se llevó la muestra a baño maría a una temperatura de 40°C, con el fin de destilar el alcohol de la muestra, llegando hasta un promedio entre 1 - 2 grados de alcohol el cual favorece a la mejor atomización del extracto. Se atomizó la muestra con el uso del atomizador Mini Spray Dryer B-290 y el producto obtenido se envasó en un recipiente herméticamente cerrado, debido a que el extracto atomizado es muy higroscópico³⁶.

3.3.4. Tamizaje fitoquímico

Consiste en la identificación y reconocimiento de los diferentes metabolitos secundarios presentes en el extracto de las hojas. Se empleó el método de análisis

cualitativo de ensayo a la gota, el cual consiste en someter al extracto vegetal, según la polaridad y reactivos específicos que generan compuestos coloreados o precipitados, según el tipo de metabolito secundario presentes^{37,38}.

Los ensayos de identificación se describen a continuación:

- **Extracto clorofórmico**

Esteroides: Ensayo de Lieberman-Burchard. A 5 gotas de extracto, añadir 5 gotas de anhídrido acético y luego 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Una coloración verde, azul, azul verdosa, violeta o roja, indica presencia de un núcleo esteroideal o triterpenoidal.

Quinonas: Ensayo de Borntrager. A 5 gotas del extracto, llevado a sequedad, agregar 5 gota de tolueno o análogos (disolver) y luego, 5 gotas de NaOH al 5 %. La aparición de una coloración roja, en la fase acuosa indica la presencia de antraquinonas y naftaquinonas.

- **Extracto etanólico**

Esteroides: A 5 gotas de extracto, llevando a sequedad agregar 5 gotas de diclorometano o cloroformo (disolver) y realizar el ensayo de Lieberman-Burchard.

Flavonoides: Ensayo de Shinoda. A 5 gotas de muestra colocar unos trocitos de magnesio metálico y luego agregar 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. La coloración rojiza indica la presencia de flavonoides.

Cardiotónicos: Ensayo de Kedde. A 5 gotas de extracto agregar 3 gotas de reactivo de Kedde. La aparición de coloraciones violetas o purpuras indica la existencia de cardiotónicos.

Taninos: Ensayo de cloruro férrico. A 5 gotas de extracto añadir 2 gotas de solución de cloruro férrico al 1 %. Una coloración azul indica la presencia de taninos hidrolizables y una coloración verde de taninos condensados.

- **Extracto acuoso**

Antiocianinas: Ensayo del pH (medio ácido y básico). A 5 gotas de extracto añadir 3 gotas de HCl concentrado. Observar el color formado. A otras 5 gotas de extracto añadir 3 gotas de NaOH al 5 %. Observar el color formado. Las antiocianinas se reconocen por producir diferentes colores a diferentes pH.

Saponinas: Ensayo de espuma. Colocar 3 mL del extracto en un tubo de ensayo y agitar vigorosamente por 30 segundos, esperar 15 minutos. La persistencia de espuma indica la presencia de saponinas.

Taninos: Ensayo de cloruro férrico.

- **Extracto ácido clorhídrico al 1 %**

Alcaloides: Ensayos de Dragendorff, Meyer y Wagner. Colocar en 3 tubos de ensayo, 1mL de extracto ácido. Añadir a cada uno 2 gotas de los reactivos de Dragendorff, Mayer y Wagner. Si se observa turbidez o precipitados (rojo a naranja, blanco a crema y marrón) se considera que la muestra contiene alcaloides.

3.3.5. Ensayo fitoquímico del extracto atomizado

Las reacciones de identificación de los diferentes compuestos químicos (metabolitos secundarios) del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca – coca”, se realizaron siguiendo los procedimientos de Pérez et al.³⁷, Miranda y Cuellar³⁸.

3.3.6. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado

Al extracto atomizado, se evaluó los parámetros físico-químicos³⁹.

3.3.6.1. Determinación de las características organolépticas

- **Color:** se colocó la muestra en un tubo de ensayo hasta las tres partes y se obtuvo el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.
- **Olor:** se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo e introdujo en un extremo de la muestra del ensayo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, etc.
- **Sabor:** se tomó una cantidad suficiente y se colocó en una luna de reloj, luego hacer contacto con la lengua y determinar el tipo de sabor (dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc.)
- **Aspecto:** se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observa y se determina el aspecto de la muestra.

3.3.6.2. Determinación de la solubilidad

Se determinó la solubilidad del extracto atomizado se pesó 1g de muestra y se vació en un tubo de ensayo, el cual se le adiciono 1 mL de disolvente (agua, alcohol, cloroformo, metanol, N-butil), agitar y observar, en caso de no disolverse aumentar el disolvente a 10 mL, hasta determinar si es soluble.

3.3.6.3. Determinación pH

Se midió el pH con el pH-metro de mesa, para ello se preparó una solución reguladora de pH, para rango de 0-7. Una vez preparada la solución reguladora,

se ajustó el equipo al rango en que se realizó la determinación. Posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra.

3.3.6.4. Determinación del contenido de humedad

Se pesó 5 mg y se transfiere a una placa Petri previamente tarada y desecada, seguidamente se deseco a 105 °C durante tres horas. La placa Petri se colocó en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante una hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante¹⁷.

3.3.6.5. Determinación del contenido de cenizas

Se pesó no menos de 2g ni más de 3g de la muestra, con una desviación permisible de 5mg en un crisol de porcelana o platino previamente tarada. Se calienta suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente incinere en una mufla a una temperatura de 700 °C a 750 °C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante dos horas. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 5mg por g para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min¹⁷.

3.4. Determinación de contenido de fenoles totales

Se determinó el contenido de fenoles totales mediante el método de espectrofotometría de Folin-Ciocalteu, para lo cual se usó el ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia¹¹.

Este método se fundamenta en su carácter reductor y seguida neutralización. Consiste 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 espectrofotómetro 765nm⁴⁰.

3.4.1. Preparación de la curva de calibración de ácido gálico

Se pesó 20 mg de ácido gálico, se disolvió con agua destilada y se enrazó a un volumen de 25 mL para obtener una solución stock de 800 µg/mL. de esta solución madre se prepararan soluciones estándares de 10, 20, 40, 60 µg/mL. A partir de los estándares se toman alícuotas de 100 µL, 500 µL del reactivo de Folin-

Ciocalteu y 400 μ L de carbonato de sodio 7,5 %. Transcurridos los 30 minutos se mide la absorbancia 765 nm. Se usó la solución preparada sin la muestra como blanco. Diluir el reactivo Folin 1/10 con agua destilada.

3.4.2. Procedimiento para la preparación de la muestra:

Se pesó 100 mg del extracto seco llevado a dilución de 10 mL con etanol de 70°, se extrajo 2 mL de esta dilución se llevó a una fiola 25 mL aforado con etanol de 70° y por ultimo se extrajo 2 mL de la última dilución llevado a una fiola de 5 mL aforado con etanol de 70° (solución muestra) tomar 100 μ L de las muestras convenientemente diluidas, tomar 500 μ L del reactivo Folin – Ciocalteu 1:10, adicionar 400 μ L de una solución de carbonato de sodio al 7,5 %, se mezcló en un tubo de ensayo, se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 30 minutos, se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 765nm utilizando un espectrofotómetro; El contenido de fenoles totales se expresará en miligramos de equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de material vegetal seco, a partir de una curva de calibración del estándar ácido gálico de 10 a 60 μ g/mL.

3.5. Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales en los extractos atomizados de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer será determinado por el método de Palomino,⁴¹ Empleando el reactivo $AlCl_3$. Utilizando la rutina como el compuesto flavonoide de referencia.

3.5.1. Preparación de la curva de calibración de rutina solución madre de rutina

Se pesó 1 mg de rutina, vertido en un matraz de 25 mL, se disolvió con 2,5 mL de metanol y aforar a volumen con etanol de 70°. De esta solución stock se tomó directamente de 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 y 4 mL; 0,5 mL de tricloruro de aluminio y etanol al 50 % cantidad suficiente para 5 mL; el blanco se prepara de igual forma sin la muestra⁴². Dejar reposar 30 minutos y luego realizar las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 415 nm.

3.5.2. Procedimiento de la preparación de la muestra

Se pesó 100 mg del extracto seco y llevar a diluciones de 10 mL y 25 mL aforado con etanol 70 % (solución muestra). A partir de la última dilución se tomó una alícuota de 2 mL y se transfirió a un volumétrico de 5 mL, se adicionó a

continuación 0,5 mL del reactivo de tricloruro de aluminio 2 %. 2,5 mL se completará con alcohol de 70 % hasta volumen. Después de treinta minutos de incubación a T° ambiente, la absorbancia será medida a 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 con un intervalo de concentración de 8-32 µg/mL.

3.6. Determinación de la actividad antioxidante

3.6.1. Método de radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Se realizó la evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante siguiendo la metodología descrito por Sousa et al.⁴³, el seguimiento del consumo de radical DPPH por las muestras, mediante la disminución de la absorbancia de las soluciones a diferentes concentraciones. Estas mediciones se harán en UV-Vis; a una longitud de onda de 515 nm, se usará el ácido gálico como control positivo. Los resultados se pueden expresar como IC₅₀, % de captación, % de actividad antirradicalaria, o equivalentes a trolox o equivalentes a vitamina C (cuando es comparado con estándares)

Siendo el Trolox un patrón ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcromán-2-carboxílico (Trolox), un análogo sintético hidrosoluble de la vitamina E.⁴⁴

3.6.1.1. Procedimiento

Se procedió a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en etanol 96° a una concentración de 40 mg/mL, se mantuvo en el refrigerador y protegido de la luz, se realizó diluciones de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1 µg/mL. La curva de calibración se construirá 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 etanol⁴³.

El extracto atomizado de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer y el control positivo (trolox) en etanol 96°, se diluyó 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 realizó a 515 nm a 1, 5 y 10 minutos, cada 10 minutos hasta 1 hora. Se utilizará una mezcla de etanol (2,7 mL) y 0,3 del extracto como solución de blanco.⁴³ A partir de la curva de calibración de la ecuación y los valores de

tiempo absorbancia de 30 minutos, se determinó el porcentaje de DPPH restante (%DPPH_{REM}).

De acuerdo a la ecuación

$$\%DPPH_{REM} = \left[\frac{DPPH_{T=t}}{DPPH_{T=0}} \right] \times 100$$

Ecuación 1. Determinación del DPPH remanente

Donde:

DPPH_{T=t} Concentración DPPH en el medio de reacción.

DPPH_{T=0} Concentración inicial de DPPH

Los valores de absorbancia a todas las concentraciones ensayadas se convertirán en porcentaje de actividad antioxidante (%AA), que será determinada por la ecuación⁴³.

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

Ecuación 2. Determinación del porcentaje de Actividad Antioxidante

Donde:

Abs_{control}: absorbancia inicial de la solución metanólica de DPPH,

Abs_{muestra}: absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra.

La concentración requerida para el 50% de inhibición del radical libre DPPH (IC₅₀) será calculada mediante la ecuación de la gráfica de concentración del extracto y trolox vs % inhibición.

Posteriormente se determina la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC) con la ecuación

$$TEAC \left(TROLOX \frac{mg}{100g \text{ planta}} \right) = \frac{IC_{50} \text{ Trolox}}{IC_{50} \text{ muestra}} \times 100$$

Ecuación 3. Determinación de la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC)

3.6.2. Método del Radical (ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)

Para la solución madre de ABTS: Se preparó una solución madre de ABTS (7Mm), para ello se pesó exactamente 0,09601 g de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-

etilbenzotiazolina-6-sulfónico) diammonium salt, 98%) y se disolvió en 25 mL de agua bidestilada^{18,37,38}.

Se preparó la solución de persulfato de potasio: Se preparó una solución de persulfato de potasio (2,45mM), para ello se pesó 0,0165 g de K₂S₂O₈ y se disolvió en 25mL de agua bidestilada^{5,45,46}.

3.6.2.1. Preparación del radical ABTS^{•+}

En un frasco ámbar, se colocó 3mL de la solución madre ABTS (7mM) y 3 mL de la solución de Persulfato de Potasio K₂S₂O₈ (2,45mM), se homogenizó y se cubrió con papel aluminio. La solución se incubó de 12 a 16 horas a temperatura ambiente (± 25°C) antes de su utilización.

La solución tiene un periodo de uso de 2 días en refrigeración. Una vez formado el radical ABTS^{•+} se diluyó con etanol 96° hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 (± 0,02) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción)^{5,45,47,48}.

3.6.2.2. Procedimiento

Se colocó 20 µl de la solución del extracto a concentraciones de 50 a 250 µg/mL en tubos de vidrio y se reaccionó con 980 µl del radical ABTS se mide la densidad óptica de la mezcla de reacción al minuto 6 a 734 nm, se realizó los ensayos por triplicado.

Se construyó la curva de calibración con Trolox a concentraciones de 50 a 250 µg/mL, y se determinará el porcentaje de inhibición utilizando la siguiente ecuación⁴⁹:

$$\% \text{ de Inhibicion} = \frac{(A \text{ inicial}) - (A \text{ final})}{(A \text{ inicial})} \times 100$$

Ecuación 4. Determinación del porcentaje de inhibición de radicales libres con Trolox

Con los datos obtenidos se calculó la Concentración Inhibitoria 50 (IC₅₀), Posteriormente se determinó la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC) con la ecuación

$$\text{TEAC} \left(\text{TROLOX} \frac{\text{mg}}{100\text{g planta}} \right) = \frac{\text{IC}_{50} \text{ Trolox}}{\text{IC}_{50} \text{ muestra}} \times 100$$

Ecuación 5. Determinación de la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC)

3.6.3. Método poder reductor antioxidante Férrico (FRAP)

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 ion férrico (Fe^{3+}) a ion ferroso (Fe^{2+}); esta última forma un complejo azul ($\text{Fe}^{2+}/\text{TPTZ}$), cuya absorbencia 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 fenoles⁵⁰.

3.6.3.1. Desarrollo del método

Solución de ácido clorhídrico HCl 40 Mm. Se diluyó 535 μl de HCl (37%) en 100 mL de agua destilada.

Solución TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) 10mM. Se pesó 0,0312 g del reactivo TPTZ y se disolvió en un matraz de 10 mL con HCl 40 mM. Solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM. Se pesó 0,1352g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, se disolvió en 25mL de agua destilada. Tampón acetato 0,3mM; PH 3,6 para 250mL. Se disolvió 0,00615g de acetato de sodio en 200mL de agua destilada^{40,49}.

Ajustar el pH a 3,6 utilizando HCl 40 mM y completar hasta los 250 mL con agua destilada.

3.6.3.2. Procedimiento

Se colocó 20 μl de la solución del extracto a concentraciones de 50 a 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en tubos de vidrio y se hacen reaccionar con 980 μl de la solución de trabajo. Se medó la densidad óptica de la mezcla de reacción al minuto 30 a 593 nm, los ensayos se realizarán por triplicado. Se construyó la curva de calibración con Trolox a concentraciones de 50 a 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$, y se determinará el porcentaje de inhibición utilizando la ecuación 4.

Con los datos obtenidos se calcula la Concentración Inhibitoria 50 (IC_{50}), Posteriormente se determina la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC) con la ecuación⁴⁹.

$$\text{TEAC} \left(\text{TROLOX} \frac{\text{mg}}{100\text{g planta}} \right) = \frac{\text{IC}_{50} \text{ Trolox}}{\text{IC}_{50} \text{ muestra}} \times 100$$

Ecuación 7. Determinación de la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC)

3.7. Tipo y diseño de investigación

3.7.1. Tipo de investigación

Básico – Descriptivo.

- **Básica:** Se realiza con el propósito de acrecentar los conocimientos teóricos para el progreso de una determinada ciencia, se ocupa de las aplicaciones prácticas que pueden hacer referencias los análisis teóricos, es más formal y persigue propósitos teóricos en el sentido de aumentar el acervo de conocimientos de una determinada teoría⁵¹.
- **Descriptivo:** Miden y evalúan diversos aspectos, dimensiones o componentes del fenómeno o fenómenos a investigar. Desde el punto de vista científico, describir es medir⁵².

3.7.2. Diseño de investigación

El diseño de la investigación es descriptivo⁵¹.

$$M - O$$

Dónde:

M corresponde a la obtención del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer.

O es la observación de la composición de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante.

3.8. Análisis de datos

Los datos que se obtuvo de la evaluación de los estudios fueron procesados por Microsoft y en el Software OriginPro.

Se expresó los resultados como promedio, la diferencia significativa existente entre los tratamientos fue evaluado del análisis de varianza (ANOVA one-way), seguidos de la prueba de t-student, con un nivel de significancia estadística de 0,05. Los promedios de la actividad antioxidante son reportados en gráficos y los valores de CI_{50} son reportados en tablas.

Para identificar diferencias estadísticamente significativas de las concentraciones evaluadas se calculó en análisis de varianza, comparaciones múltiples de Duncan y t de Student de muestras independientes con nivel de confianza de 95%, mediante el programa de SPSS versión 19.0⁵².

IV. RESULTADOS

Tabla 5. Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). "coca – coca" Ayacucho – 2018.

Metabolito secundario		Ensayos	Resultado	Observaciones
Flavonoides		Shinoda	++	Coloración naranja en la fase amílica
Fenoles y/o Taninos		Cloruro férrico	+++	Coloración verde intensa
Triterpenos Esteroides	y/o	Liebermann-Burchard	+++	Coloración verde con un halo rojo
Lactonas cumarinas	y/o	Bajet	++	Coloración naranja oscuro
Cardiotónicos		Kedde	++	Precipitado naranja

Leyenda:

Regular: (++)

Intensa: (+++)

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho – 2018.

Parámetros	Ensayos	Resultados
Organoléptico	Color	Beige claro
	Olor	Suigéneris
	Sabor	Agrio
	Aspecto	Polvo fino
Solubilidad	Metanol	Soluble
	Cloroformo	Soluble
	Etanol	Soluble
	Agua	Soluble
pH	Agua	3,76
Humedad	Perdida de secación	por 4,12%
Cenizas	Cenizas totales	1,24%

Figura 5. Contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca – coca” Ayacucho - 2018.

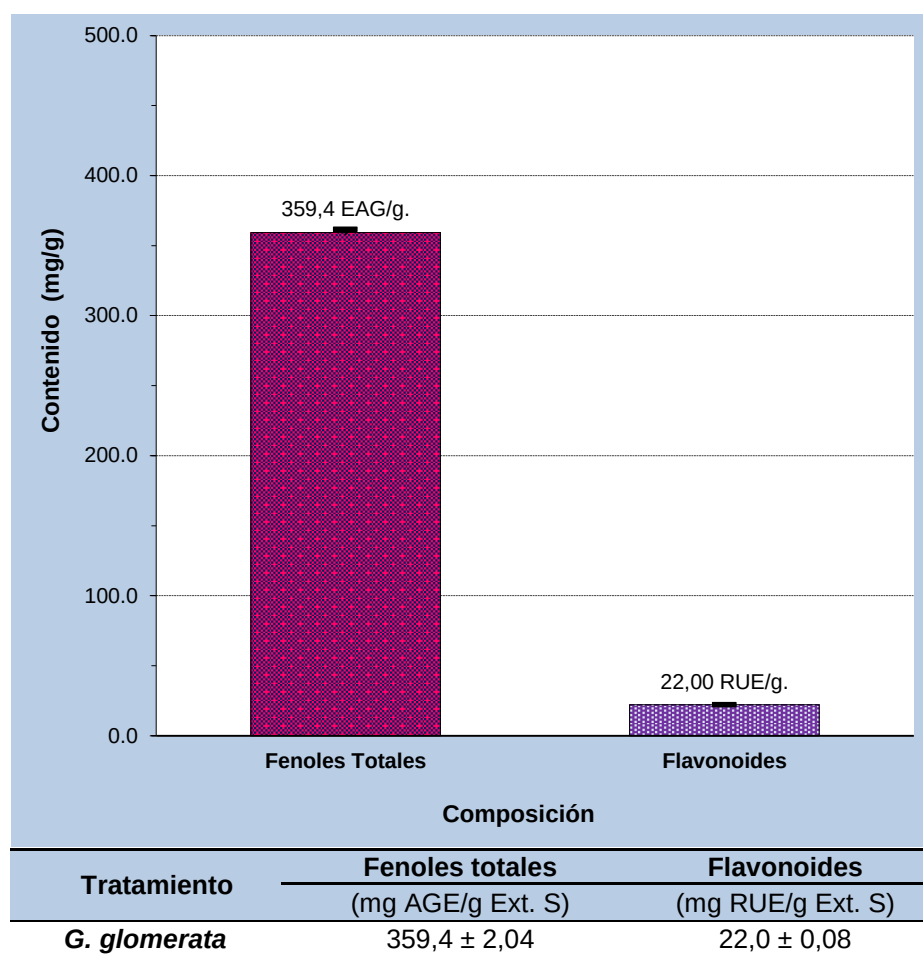
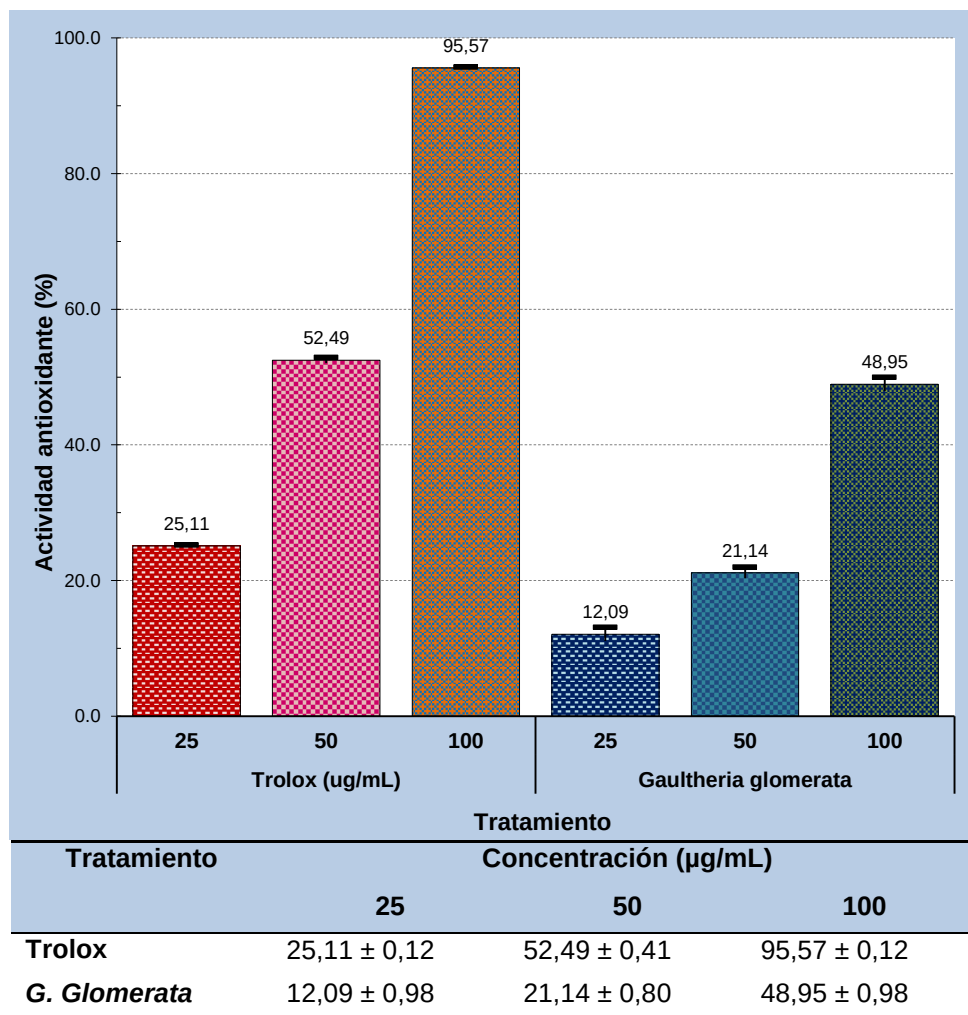
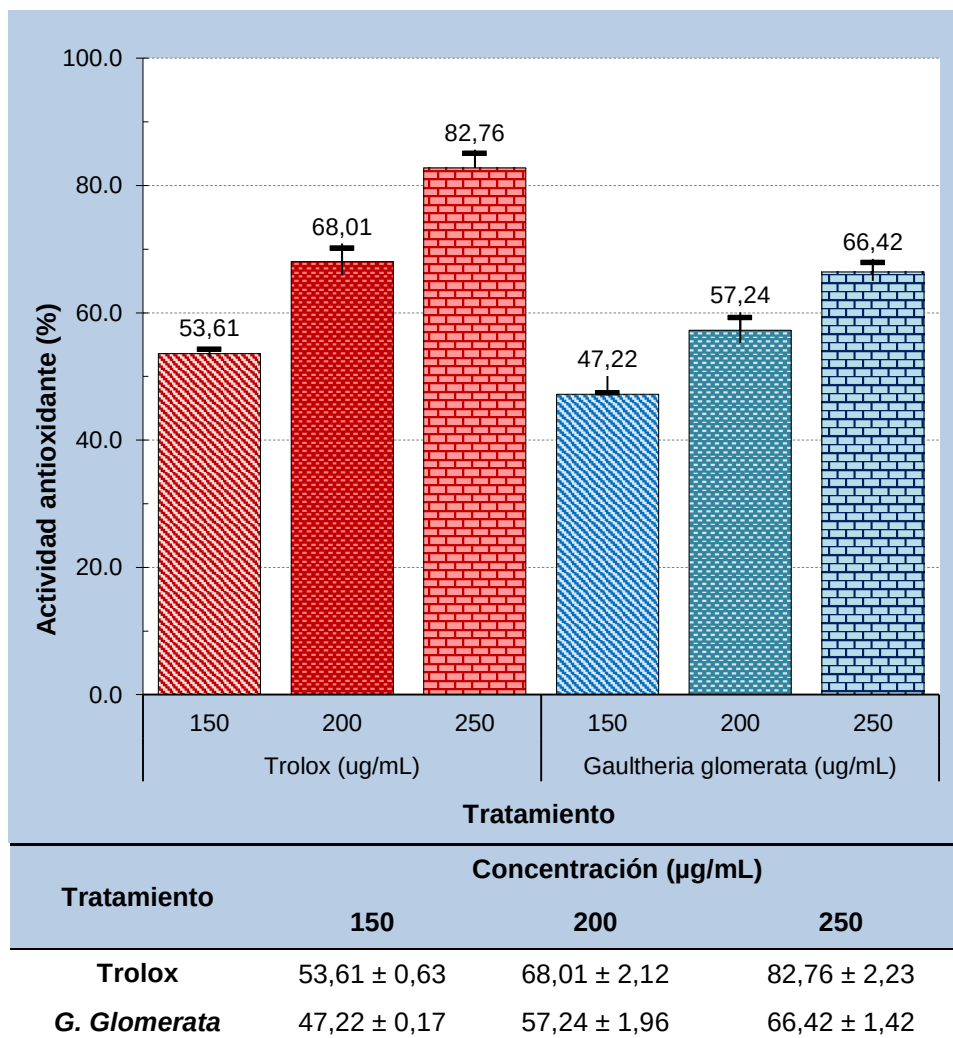


Figura 6. Porcentaje de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca - coca” Ayacucho - 2018.



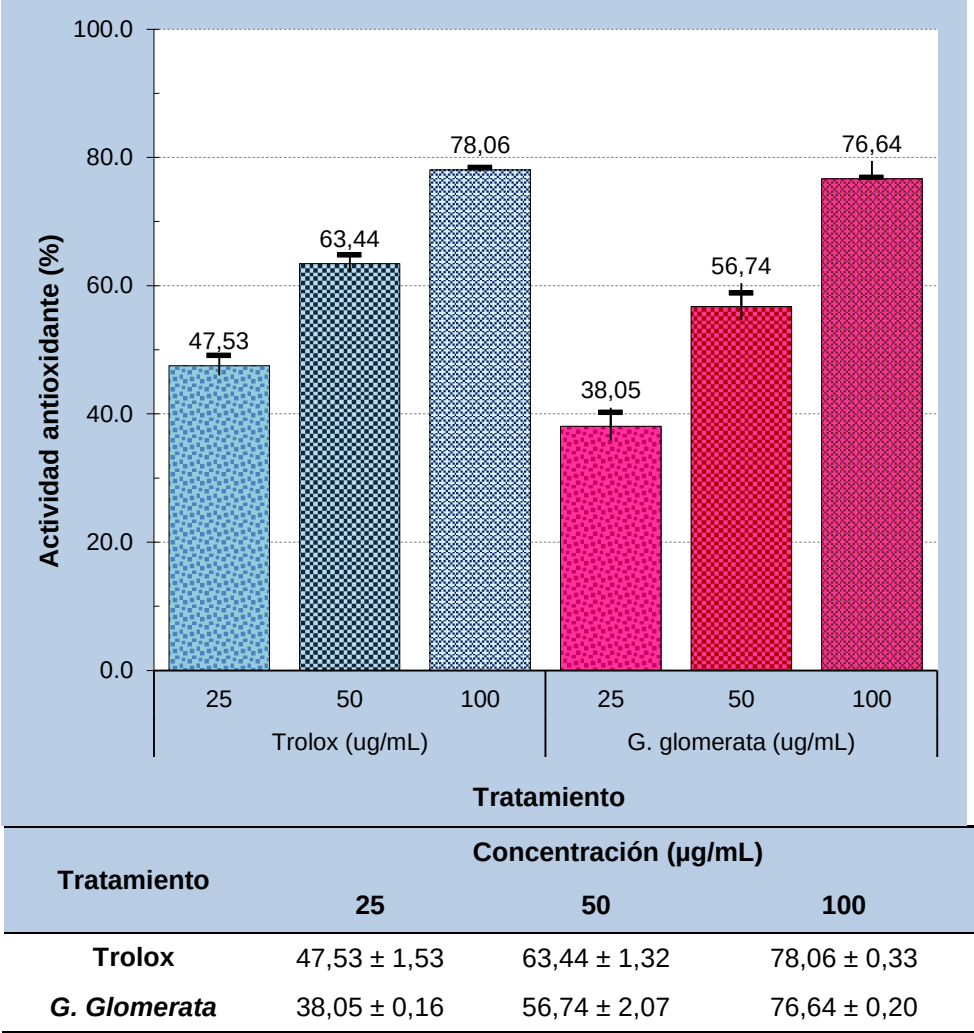
p- valor = $1,25 \times 10^{-23}$

Figura 7. Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método ABTS del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca – coca” Ayacucho - 2018.



p- valor = $1,6 \times 10^{-14}$

Figura 8. Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método FRAP del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca – coca” Ayacucho - 2018



p- valor = 3.4 x 10⁻¹⁶

Tabla 7. Concentración inhibitoria media (CI₅₀) del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca – coca” Ayacucho - 2018

Muestra	DPPH	ABTS	FRAP
	CI ₅₀ (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)
<i>Gaultheria glomerata</i>	106,1 ± 0,72	169,3 ± 1,40	39,1 ± 2,18
Trolox	38,7 ± 0,04	144,7 ± 2,01	27,2 ± 1,04
p- valor	0,000	3,9 x 10 ⁻⁶	6,8 x 10 ⁻⁵

V. DISCUSIÓN

Se ha demostrado que en el Perú, el comercio de hierbas es un recurso económico de mayor importancia, pero se ve amenazado por la disminución en los conocimientos tradicionales llevando a una valorización inapropiada de los remedios tradicionales, las investigaciones más consideradas son las de la concentración inhibitoria mínima, análisis de toxicidad, ensayos de actividad bacteriana y análisis fitoquímicos, se han enfocado estudios para tratamientos herbales de enfermedades renales e infecciones urinarias, acné y malaria¹.

Es nuestra especie herbal *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer que fue recolectada en el centro poblado de Huaraca del distrito de Vinchos de la provincia de Huamanga, región Ayacucho; una de las especies sin valorización sobre sus efectos que mediante una información etnobotánica sus partes herbales son usadas como analgésicas, antirreumáticas y antiartríticas, antisépticas, antiespasmódicas, aromáticas, y propiedades astringentes.

En la Tabla 5, Por medio del análisis fitoquímico se determinó cualitativamente en el extracto atomizado de las hojas *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. La presencia de distintos metabolitos secundarios, tales como los flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, triterpenos y/o esteroides, lactonas y/o cumarinas y cardiotónicos; así mismo resaltar los ensayos de cloruro férrico y shinoda, por los que se puede determinar la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos y flavonoides respectivamente, observándose una coloración naranja en la fase amílica para flavonoides y una coloración verde intensa para taninos pirocatecólicos. Las cuales le otorgan distintas propiedades terapéuticas para la salud, es por ello que muchas investigaciones se basan para otorgarle su poder antioxidante.

Los resultados descritos párrafos anteriores, se relacionan con los estudios realizados por Valenzuela y Gracia⁵³, en el cual el análisis fitoquímico del

extracto hidroalcohólico de la familia Ericaceae en la muestra de las hojas de la especie *Gaultheria myrsinoides*, presenta una gran presencia de compuestos fenólicos y/o taninos, de flavonoides, esteroides y saponinas, coincidiendo con los ensayos de realizados a las hojas en nuestro estudio.

Por su lado Castañeda y Pazos¹³, en otra investigación al extracto hidroalcohólico del fruto de la *Gaultheria erecta*, reporta mayor presencia de compuestos fenólicos y/o taninos, de flavonoides y en menor cantidad a los azúcares reductores, cumarinas y aminoácidos, mostrando que su fruto de esta especie muestra un gran poder antioxidantes, libre de alcaloides, basándose en su resultado negativo y a bibliografías, en la cual clasifican a la familia de la ericaceae no se caracteriza por la presencia de alcaloides; por lo cual este resultado coincide con la quimio-taxonomía de la familia. Otros estudios realizados a la familia de las ericáceae, por Plazas⁵⁴, en el análisis fitoquímicos, por medio de análisis cualitativos determino la presencia de metabolitos secundarios en extractos de hojas, flores y frutos de seis especies como: *C. bracteata*, *M. rupestris*, *B. resinosa*, *G. erecta*, *T.floribunda* y *D. alaternoides*. Reporta presencia de fenoles, flavonoides, taninos, cumarinas, terpenos, esteroides y quinonas; mostrando como metabolito más abundante a los fenoles y flavonoides.

En la tabla 6; se determina las características de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. Demostrando una coloración beige claro, un olor siugeneresis, un sabor agrio, aspecto polvo fino, solubilidad en metanol, cloroformo, agua, con un pH de 3,76, humedad 4,12%. Esta propiedad es significativa puestos que manifiesta el cuidado que se tuvo durante el manipuleo, procesamiento y almacenamiento de la especie vegetal y ceniza 1,24 %.

En un estudio señala Palomino⁴², que se evalúan propiedades organolépticas, por medio de la evaluación sensorial a través de la cual se debe hacer uso de uno o más sentidos, la cual servirá de forma más directa para la medición de la calidad del producto alimenticio. Por su lado Kuskoski⁴⁸, señala que la solubilidad depende de la forma en que se encuentran; las agliconas libres, son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólico y solubles en disolventes orgánicos ya sean polares o apolares. Por su parte, los Heterósidos son solubles en agua y mezclas hidroalcohólico e insolubles en disolventes orgánicos apolares.

Por lo cual muchas investigaciones coinciden que, en el estudio fitoquímico de la familia de las ericaceae, se puede observar tanto en los extractos de las hojas, flores y frutos la mayor presencia de fenoles totales y/o taninos y flavonoides, los cuales le otorgan poderes antioxidantes potentes con efectos anticancerígenos y antimutagénicos beneficiosos para la salud.

Garrido et al.⁵⁵, señala que la determinación de fenoles y flavonoides totales, se podría deber a la capacidad de los disolventes para extraer los compuestos desde el material vegetal, a la temperatura o al tiempo de extracción; Lo cual podría explicar también el alto porcentaje de rendimiento de estos extractos, demostrando que el disolvente utilizado en el proceso de extracción juega un rol importante, considerando la polaridad tanto del disolvente como la de los compuestos fenólicos. Por su parte Huaccho¹², menciona que al igual que los flavonoides, los ácidos fenólicos constituyen también una importante clase de compuestos fenólicos con funciones bioactivas; por lo general, se encuentran en los productos vegetales y alimentos. Los compuestos fenólicos se encuentran ampliamente distribuidos en frutas y verduras, los cuales se asocia con un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares, enfermedades neuro-degenerativas y ciertos tipos de cáncer.

En la figura 4, se observa los resultados de la cuantificación de fenoles totales y flavonoides, se usaron los métodos de espectrofotometría de Folin – Ciocalteu y cloruro de aluminio respectivamente. Para la cuantificación de fenoles totales se elaboró la curva de calibración del ácido gálico, con un coeficiente de correlación de 0,9997 (anexo 9) obteniéndose en miligramos de ácido gálico equivalentes (AGE) por gramo de extracto seco de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer., los cuales presentaron valores de fenoles totales $359,4 \pm 2,04$ mg AGE/g de extracto seco. Los flavonoides en miligramos de rutina equivalentes (RUE) por gramo de extracto seco, se obtuvieron valores de $22,0 \pm 0,08$ mg RUE/g de extracto seco. Se puede observar que el contenido de flavonoides es menor, basamos en que son los fenoles los que engloban a los flavonoides.

Según Carpio y Figueroa¹¹, En el análisis para la cuantificación de fenoles totales se observa la coloración azul debido a que el reactivo de Folin – Ciocalteu, reacciona con los compuestos polifenólicos en medio alcalino, teniendo como resultado un cambio de la coloración de amarillo a azul, considerando que la intensidad depende del contenido de fenoles presentes. En el análisis de

flavonoides por medio del tricloruro de aluminio se observa una coloración amarilla el cual se debe a que el catión de aluminio forma complejo estables con el flavonoide en etanol así evita la interferencia de otros compuestos fenólicos.

Almeyda¹⁷, menciona que la cuantificación de compuestos fenólicos totales se pudo determinar un promedio de $15,9 \pm 0,5$ mgEAG/g extracto atomizado y un nivel de significancia de $p > 0,05$ entre el porcentaje de actividad antioxidante del ácido gálico y el extracto atomizado a diferentes concentraciones. Por su lado Garrido et al.⁵⁵, realizaron la cuantificación de fenoles totales en extracto de *L. medicinalis*, en la maceración en metanol, el cual presento mayor concentración fenoles de $5807,9 \pm 340,0$ mg/Eq ácido gálico/100g de muestra seca. Mientras que la decocción, presentó mayor concentración de flavonoides $136,0 \pm 5,5$ mg Eq quercetina/100 g muestra seca) con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en relación con los demás extractos.

Valenzuela⁴¹, determino la cuantificación de fenoles totales (ensayo de Folin-Ciocalteu) y el contenido de flavonoides (ensayo colorimétrico con $AlCl_3$) de extractos etanólicos seriados (EETs) de hojas de 10 genotipos de murtila los resultados obtenidos, los extracto etanolico presentaron diferencias significativas entre sí ($p < 0,05$), siendo el extracto etanolico del genotipo ZF-18 el que obtuvo el mayor contenido fenólico total, ($260,6 \pm 3,7$ mg EAG/g ES) y el genotipo 31-1 el que obtuvo la mayor cantidad de flavonoides ($53,5 \pm 0,8$ mg quercetina/g ES).

La finalidad de esta investigación fue de determinar la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) sleumer, por medio de los compuestos cromógenos *in-vitro* con las especies radicalarias simétricas (DPPH, ABTS Y FRAP) considerando que estos métodos son los más usadas en los laboratorios del mundo, ya que determinan de manera general la capacidad antioxidante de las sustancias para donar hidrogeno o captar electrones.

Kuskoski et al.⁴⁸, nos hacen mención que los métodos más usados son ABTS y DPPH por presentan una excelente estabilidad, en caso del DPPH es un radical libre que se obtiene directamente sin una preparación previa, el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química, enzimática o también electroquímica, se puede medir la actividad de los compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico; El radical ABTS tiene, además, la ventaja de que su espectro presenta

máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, mientras que el DPPH presenta un pico de absorbancia a 515 nm.

Asimismo Sotelo et al.⁷, mencionan que la técnica de FRAP Consiste en evaluar la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el complejo tripiridiltiazina. El ensayo FRAP se determinó sobre la base de la reducción de Fe^{3+} a un color azul Fe^{2+} ; El radical ABTS se generó por la reacción de oxidación del ABTS con per sulfato de potasio.

Por lo que respecta a la determinación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, se trabajó con la curva de calibración del radical (anexo 15), se elaboró de acuerdo a la metodología descrita por Suosa et al.⁴³, trabajándose a distintas concentraciones de acuerdo al (anexo 13), la determinación de la actividad antioxidante del método ABTS, se realizó de acuerdo al (anexo 22) por otro lado la evaluación de la actividad antioxidante del método FRAP se realizó de acuerdo al (anexo 29).

De forma semejante se contrastó el porcentaje de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, ABTS y FRAP, se usó como estándar el trolox, en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer y el estándar preparado a distintas concentraciones de acuerdo a los (anexo 14, anexo 22 y anexo 29) respectivamente.

Los resultados obtenidos según el método DPPH, se observa en la figura 5, el porcentaje de mayor actividad antioxidante a concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$, siendo de $95,57 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ con respecto a la del control positivo Trolox y $48,95 \pm 0,98 \mu\text{g/mL}$ para la muestra de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer es estadísticamente diferente $p= 1,25 \times 10^{-23}$; según el método ABTS, se observa en la figura 6, el porcentaje de mayor actividad antioxidante a concentración de 250 $\mu\text{g/mL}$, siendo de $82,76 \pm 2,23 \mu\text{g/mL}$ con respecto a la del control positivo Trolox y $66,42 \pm 1,42 \mu\text{g/mL}$ para la muestra de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer es estadísticamente diferente $p= 1,6 \times 10^{-14}$; según el método FRAP, se observa en la figura 7, el porcentaje de mayor actividad antioxidante a concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$, siendo de $78,06 \pm 0,33 \mu\text{g/mL}$ con respecto a la del control positivo Trolox y $76,64 \pm 0,20 \mu\text{g/mL}$ para la muestra de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer es estadísticamente diferente $p= 3,4 \times 10^{-16}$.

En contraste a otros estudios realizados por Garcia²², consistió en llevar a cabo la capacidad antioxidante *in vitro* de los clones de papa a través de pruebas como

FRAP que obtuvo rangos entre 75,14 – 198,14 mg ET/100g BS, para ABTS de 70,54 a 101,55 ug ET /g BS, en DPPH 21,137- 178,50 ug ET/g BS y ORAC 21,68 - 47,49 μ mol ET/g BS. Se seleccionó los 10 clones para el análisis de captación de radicales obteniéndose en radicales peróxido entre 11-28%, radicales hidroxilos entre 14-74%, $P < 0.01$) y radicales superóxidos de 34 a 45%, donde se destacaron los clones el clon CO56 y CO64 por su captación de radicales.

Por otro lado Salas¹⁰, determina la capacidad antioxidante por la metodología de la decoloración del radical DPPH y como estándar la curva de calibración de Trolox; el nivel de la capacidad antioxidante mayor fue del fruto Frambuesa silvestre con 25010,87 (μ g Eq* Trolox/100 g fruto fresco), seguido por Machamacha 23328,90 (μ g Eq* Trolox/ 100 g fruto fresco) luego, Alaybilí con 22902,90 (μ g Eq* Trolox/ 100 g fruto fresco) y Condorpausan 21924,65 (μ g Eq* Trolox/ 100 g fruto fresco).

En la tabla 7, se muestran los resultados de la concentración inhibitoria CI_{50} , según los métodos de DPPH, ABTS y FRAP para la *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. Donde a mayor concentración inhibitoria presenta una mayor capacidad antioxidante (CI_{50}) los resultados que se obtuvieron fueron de $106,1 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$, $169,3 \pm 1,40 \mu\text{g/mL}$ y de $39,1 \pm 2,18 \mu\text{g/mL}$, según el método DPPH, ABTS y FRAP respectivamente, siendo estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), siendo estos de $5,2 \times 10^{-10}$, $3,9 \times 10^{-6}$ y $6,8 \times 10^{-5}$ respectivamente según los métodos aplicados, con base a los (anexos 20, 27 y 34).

Villanueva³, determina la actividad antioxidante de las accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua", mediante el método DPPH a las accesiones: 24 (roja) con 55,61 %; 22 (negra) con 54,84%, 4 (blanca) con 52,01%, 25 (roja) con 53,88% y 6 (negra) con 50,34%; congruentes a los de IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) con 224,51; 228,44; 255,04; 238,13 y 285,99 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, que obtuvieron los valores más bajos lo cual indica que requirieron menor concentración de extracto para reducir en 50 % al DPPH.

Orjuela⁵⁶, determina la actividad antioxidantes de los extractos y fracciones de hojas de la especie *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) R.M. King & H. Robinson, realizada por los dos métodos de decoloración de los radicales DPPH y ABTS. Presentando mayor actividad antioxidante la fracción metanol del extracto etanol con un IC_{50} de 1,5 mg/L metanol en el ensayo de DPPH y 20,15 mg/L de metanol para el ensayo de ABTS respectivamente, siguiéndole la fracción de

acetato de etilo del extracto acetato de etilo con un IC_{50} de 29,90 mgExt/L Met por el ensayo de DPPH y 20,87 mgExt/L Met por el método ABTS.

Se determinaron las diferencias entre los tres ensayos, siendo estos los más usados para medir la capacidad antioxidante; siendo FRAP, que se basa en la capacidad de reducción férrica y los de ABTS y DPPH, basados en la captación de distintos radicales libres. Además de que el ensayo de DPPH solo se puede realizar en un medio orgánico lo cual se constituye una limitante en compuestos hidrofílicos, es el método de ABTS se puede realizar en medio orgánico u acuoso teniendo en consideración la naturaleza hidrofílica o lipofílica.

De los resultados obtenidos podemos afirmar que el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. Contiene alto contenido de fenoles totales, bajo en flavonoides y con buena actividad antioxidante, por lo cual se pueden realizar otros estudios que puedan confirmar la extracción del aceite de Wintergreen el cual contendría como componente principal al salicilato de metilo el cual servirá para posteriores estudios que involucren el análisis de las propiedades medicinales y formulaciones magistrales

VI. CONCLUSIONES

- En el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca – coca” se evaluó los fenoles totales, los flavonoides y la capacidad antioxidante.
- Los metabolitos secundarios identificados en el tamizaje fitoquímico del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. fueron: los flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, triterpenos y/o esteroides, lactonas y/o cumarinas y cardiotónicos.
- El extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer contienen compuestos fenólicos en promedio de $359,4 \pm 2,04$ mgGAE/g de extracto seco.
- El extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer contienen flavonoides totales en promedio de $22,0 \pm 0,08$ mgRuE/g de extracto seco.
- El extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer presentan actividad antioxidante *in vitro* frente al radical DPPH, ABTS y FRAP obteniendo resultados de 48,95mg/g, 66,42mg/g y 76,64mg/g respectivamente, con coeficiente de inhibición al 50% (IC_{50}) de 106,1 μ g/mL, 169,3 μ g/mL y 39,1 μ g/mL respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios para el aislamiento y la cuantificación de triterpenos y/o esteroides, lactonas y/o cumarinas y cardiotónicos, ya que se pudo observar que en el estudio fitoquímico la muestra de *Gaultheria glomerata* (Cav.) sleumer se denota la presencia moderada de estos metabolitos.
- Realizar mayores estudios para comprobar la presencia de salicilato de metilo, puesto que es la propiedad más ligada a la familia de las *gaultherias* mostrándose que se puede extraer el aceite de wintergreen, así comprobar los beneficios que pueda ofrecer para la salud.
- Realizar estudios clínicos y farmacológicos para evaluar la eficacia y la seguridad del uso del extracto de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer.
- Realizar investigaciones en el área de alimentos para productos nutraceuticos y en el área de Química cosmética para fitomedicamentos.
- Continuar los estudios de extracción de los compuestos que nos permitan determinar la capacidad antioxidante con otros solventes y otras técnicas.
- Realizar estudios en el cual se pueda determinar el grado de toxicidad, la concentración mínima letal, del extracto de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Elisabetski E, Angulo. Plantas medicinales de los andes y la amazonia - La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú [Internet]. 2015 [citado 7 de abril de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/l02c>
2. Cachay E. Efecto del tiempo de cocción por hervido sobre capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales en *Arracacia xanthorrhiza* (arracacha) con y sin cáscara [Internet] [Tesis]. [Lima- Perú]: UNMSM; 2016 [citado 7 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/1vha>
3. Villanueva E. Contenido de betalainas y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *chenopodium quinoa* Willd. «Quinoa» [Internet] [Tesis]. [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2015 [citado 9 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/9gjh>
4. Gallego M. Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles [Internet]. [Barcelona-España]: Universidad Politecnica de Catalunya; 2016 [citado 8 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/i0y6>
5. Carvajal M. Evaluación de la actividad antioxidante de la hojas y frutos de la feijoa (*Acca sellowiana*) [Internet] [Tesis]. [Riobamba - Ecuador]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015 [citado 20 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/p81r6>
6. Montes D. Contenido fenólico y actividad antioxidante de extractos metanólicos obtenidos de las hojas y los frutos de *Pittosporum pentandrum*. [Internet] [Tesis]. [Santa Clara]: Universidad Central «Marta Abreu» de las Villas; 2014 [citado 9 de junio de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/rfpe>
7. Sotelo C. L, Alvis B. A, Arrázola P. G. Evaluación de epicatequina, teobromina y cafeína en cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* L.), determinación de su capacidad antioxidante. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 12 de agosto de 2015;9(1):124.
8. Reyna C. Evaluación del potencial antioxidante de Joyapa (*macleandia rupestris*), y aplicación en el procesamiento de alimentos [Internet]. [Ecuador]: Universidad del Azuay; 2012 [citado 9 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/08nc>
9. Escalona JC. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de *Tamarindus indica* L. [Internet] [Tesis]. [Santiago de Cuba]: Universidad de Oriente; 2011 [citado 9 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/zm64>
10. Salas T. Capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de los frutos silvestres *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer (macha macha), *Monnina vargassi* Ferreyra (condorpausan), *Vaccinium floribundum* Kunth (alaybili) y *Rubus roseus* Poir (franbuesa silvestre) [Internet] [Tesis]. [Apurímac - Perú]: Universidad Nacional José María Arguedas; 2017 [citado 20 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/4fu>

11. Carpio R, Figueroa 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]. [Arequipa - Perú]: Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa; 2017 [citado 27 de enero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/5v1o>
12. Huaccho C. "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 26 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://n9.cl/6wd5>
13. Castañeda R, Pazos N. Estudio fitoquímico y evaluación de la capacidad antioxidante in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de *Gaultheria Erecta* [Internet] [Tesis]. [Trujillo- Perú]: Universidad Nacional de Trujillo; 2015 [citado 15 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/u8vy>
14. Sotacuro R. Caracterización fitoquímico y concentración de antocianinas en el fruto de lacca lacca (*Gaultheria Glomerata* (Cav.) Sleumer) [Internet] [Tesis]. [Huancavelica - Perú]: Universidad Nacional de Huancavelica; 2013 [citado 9 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/e04y>
15. Prado I. Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* «cabuya». Ayacucho 2013. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga [Internet]. 2015 [citado 9 de mayo de 2019]; Disponible en: <https://n9.cl/9q9c>
16. Yangali N. Actividad antioxidante de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L."Kiwicha". Ayacucho-2014. [Internet] [Tesis]. [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015 [citado 10 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/clys>
17. Almeyda WA. Fenoles totales y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay", Ayacucho 2017. [Internet]. [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2017 [citado 10 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/271>
18. Huayanay F. Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum Parthenium* L. Sch. Bip. «Santa María». [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015.
19. aceites-esenciales.org. Aceite esencial de *Gaultheria*: Todas sus Increíbles Propiedades [Internet]. Aceites esenciales. 2019 [citado 25 de junio de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/xuvl>
20. NYBG Press. WFO Monographs Details - The William & Lynda Steere Herbarium [Internet]. [Citado 18 de septiembre de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/vy7t>
21. Romero CM, Ramos DL. Composición florística y estado de conservación de los bosques de *Kageneckia lanceolata* Ruiz & Pav. Y *Escallonia myrtilloides*

- L.f. En la reserva paisajística Nor [Internet]. 2009 [citado 25 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/z5r8>
22. García A. Evaluación *in vitro/in vivo* de propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (*Solanum phureja*) [Internet] [Tesis]. [Bogotá-Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2011 [citado 25 de abril de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/n2cp>
 23. Gimeno E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm*. 1 de junio de 2004;23(6):80-4.
 24. Peñarrieta JM, Tejeda L, Mollinedo P, Vila JL, Bravo JA. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos [Internet]. *Compuestos fenólicos*. 2014. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/4263/426339682006.pdf>
 25. Martínez S, González J, Culebras JM, Tuñón J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp*. 2002;8.
 26. López T. Flavonoides [Internet]. *Flavonoides*. 2013 [citado 13 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-flavonoides-13028951>
 27. Ross JA, Kasum CM. Dietario Flavonoides: biodisponibilidad, efectos metabólicos y seguridad. *Annual Review of Nutrition*. 2002;22(1):19-34.
 28. Félix. Radicales libres y antioxidantes [Internet]. 2006 [citado 14 de agosto de 2018]. Disponible en: http://fenix.cichcu.unam.mx/libroe_2006/0988003/08_c04.pdf
 29. Rodriguez, Portillo. Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio Chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible [Internet] [bachelor]. Universidad de El Salvador; 2013 [citado 26 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/5311/>
 30. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc*. Noviembre de 1999;58(4):1025-33.
 31. Coronado DRS. "Evaluación de la actividad de extractos orgánicos de semillas de *Hliocarpus terebinthinaceus*" [Internet] [Tesis]. [Oaxaca]: Universidad Tecnológica de la Mixteca; 2007 [citado 4 de abril de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/hjg9>
 32. Bohorquez R. Determinación de la actividad antioxidante del extracto de hojas de *Diplostegium phyllicoides* (Kunth) Wedd [Internet] [Tesis]. [Bogotá-Colombia]: Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A.; 2016 [citado 20 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/8i0r>
 33. Huang D, Ou B, Prior RL. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays [Internet]. Vol. 53. 2005 [citado 12 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf030723c>

34. Tovar J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera [Internet]. Universidad Tecnológica de Pereira; 2013 [citado 4 de marzo de 2019]. book. Disponible en: <https://n9.cl/jdgg>
35. Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales - WHO - OMS - [Internet]. [Citado 26 de enero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/1g8r>
36. Sharapin N, Machado L, Souza E, Rocha E, Valverde E, López J. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapeúticos. 2000 [Internet]. [Citado 15 de octubre de 2019]; Disponible en: <https://n9.cl/k7v9>
37. Pérez F, León G, Rodríguez F, Vásquez L. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. Pueblo continente. 30 de septiembre de 2016;22(2):421-426-426.
38. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de La Habana: Editorial Félix Varela. 2000.
39. Quispe V. Formulación de una crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau «romero». [Internet] [Tesis]. [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015 [citado 6 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/tsev3>
40. Gómez 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 27 de enero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/vsdu>
41. 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 27 de enero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/4ut>
42. Palomino L. Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos de Antioquia [Internet] [Tesis]. [Medellín - Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2009 [citado 27 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://n9.cl/bn9z>
43. Sousa CM de M, Silva HR e, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, Costa CLS da, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais [Internet]. Vol. 30. Universidade Federal do Piauí: Quim. Nova; 2007 [citado 27 de abril de 2019]. 351-355 p. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000200021&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt
44. Brand willians. trolox. Información tecnológica. 2014;25(3):11-6.

45. Agudo L. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en alimentos. [Internet] [Tesis]. Rev. Electronica Autodidacta; 2010 [citado 27 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/c6mvs>
46. Márquez C, Otero C, Rojano B, Osorio J. Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* s.) en poscosecha. 1. 1 de julio de 2014;173-84.
47. Aldana Pérez CD, Guayasamín Pérez LE. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de *figus citrifolia* y caracterización química de los polifenoles. [Internet] [Tesis]. [Ecuador]: Universidad Politécnica Salesiana; 2014 [citado 27 de junio de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/nusf>
48. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Food Science and Technology. Diciembre de 2005;25(4):726-32.
49. Rivas C, Oranday M, Verde M. Investigación en plantas de importancia médica [Internet]. 1.^a ed. OmniaScience; 2016 [citado 27 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/s58q>
50. Ludeña M. Evaluación de antioxidantes provenientes de subproductos en productos procesados (bebidas) [Internet] [Tesis]. [Loja - Ecuador]: Universidad Técnica Particular de Loja; 2015 [citado 27 de abril de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/5k0t>
51. Gómez MM. Introducción a la metodología de la investigación científica [Internet]. 1.^a ed. Argentina: Editorial Brujas; 2006 [citado 20 de enero de 2019]. 194 p. Disponible en: <https://n9.cl/etks>
52. Hernández R, Baptista P, Fernández C. Metodología de la investigación [Internet]. México: McGraw-Hill Interamericana; 2014 [citado 10 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/2i4>
53. Valenzuela E, Gracia C. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antimicrobiana de algunas plantas superiores colombianas. Rev Colomb Cienc Quím Farm,. 2009;23(1):42-8.
54. Plazas G. EA. Análisis fitoquímicos y de actividad biológica de seis especies nativas de las áreas rurales del distrito capital. 2012;18.
55. Garrido G, Ortiz M, Pozo P. Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. :9.
56. Orjuela A. Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de hojas de *Chromolaena perglabra* (B.L. Robinson) R.M. King y H. Robinson. [Internet] [Tesis]. [Bogotá- Colombia]: Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A.; 2015 [citado 16 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/q41b>

ANEXOS

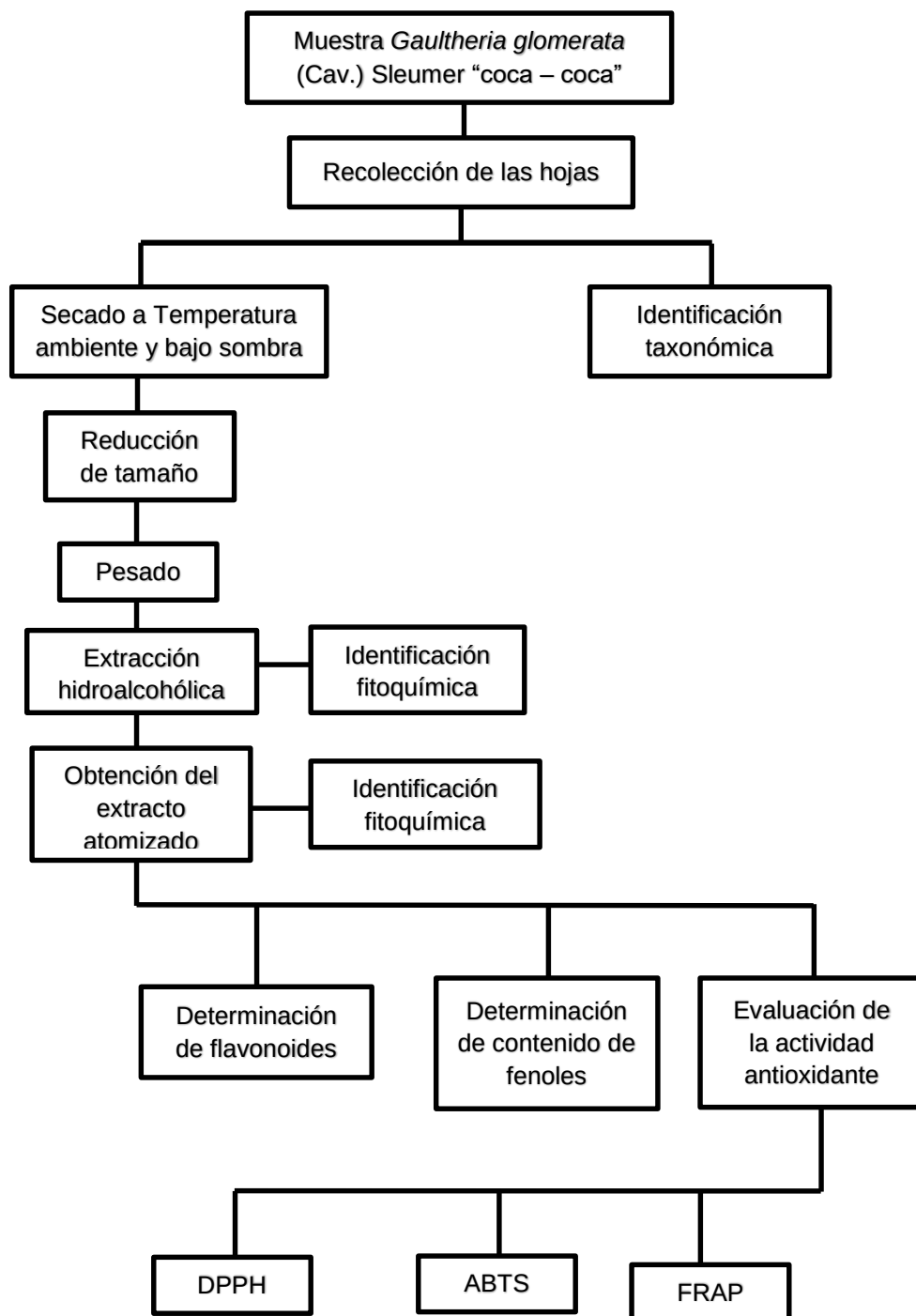
Anexo 1. Certificado de clasificación taxonómica *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) "coca – coca" Ayacucho 2018.

 	UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO MUSEO DE HISTORIA NATURAL	
"Año del Dialogo y la Reconciliación Nacional"		
 CONSTANCIA N° 221-USM-2018 		
EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE: La muestra vegetal (rama fértil), recibida del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de medicamentos y Fitomedicamentos "Marco A. Garrido Malo"; ha sido estudiada y clasificada como <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988): DIVISION: MAGNOLIOPHYTA CLASE: MAGNOLIOPSIDA SUB CLASE: DILLENIIDAE ORDEN: ERICALES FAMILIA: ERICACEAE GENERO: <i>Gaultheria</i> ESPECIE: <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer Nombre común: "Coca-coca" Determinada por: Mg. Asunción A. Cano Echevarría Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente Lima, 08 de junio de 2018  Mag. ASUNCION A. CANO ECHEVARRIA JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) 		
ACE/ddb Av. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú Teléfono: 619-7000 anexo 5703 E-mail: museohn@unmsm.edu.pe http://museohn.unmsm.edu.pe		

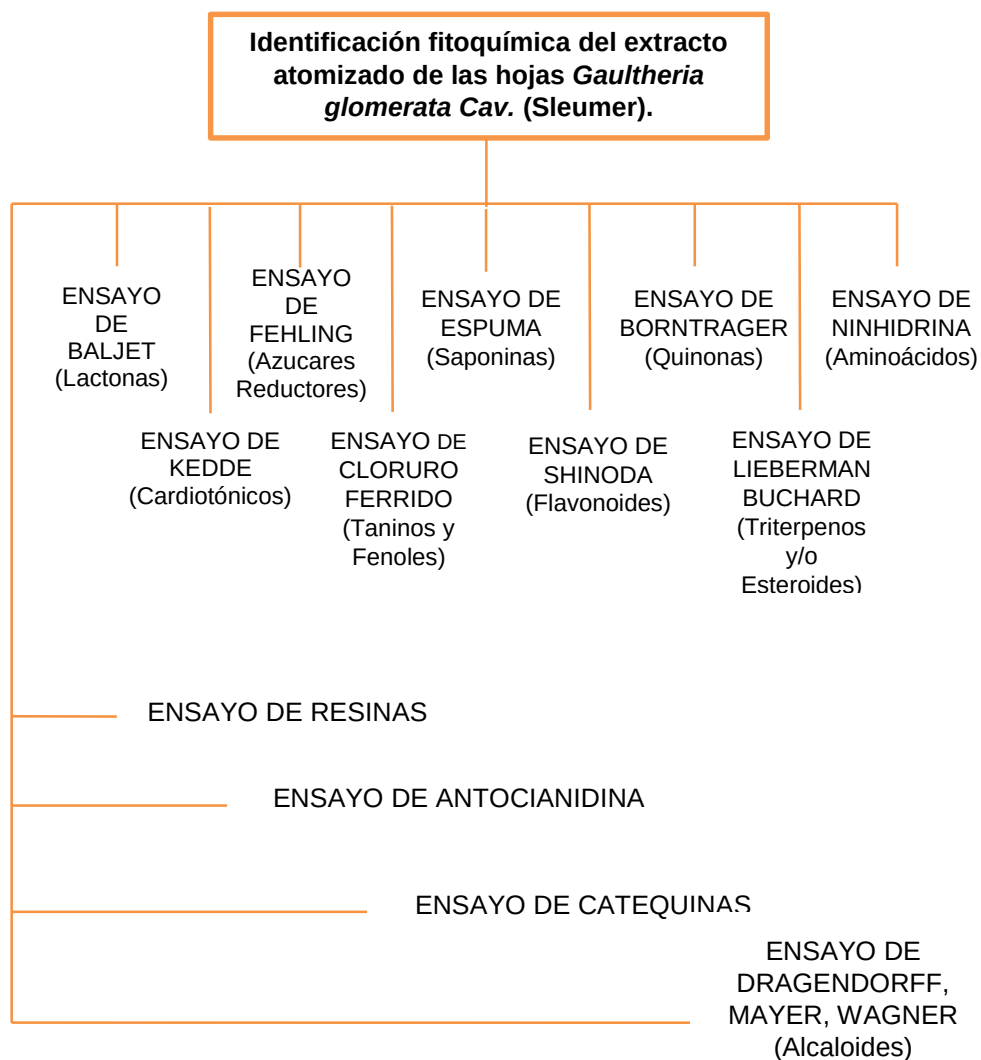
Anexo 2. Fotografía de las hojas y flores de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer)
“coca – coca” Ayacucho 2018.



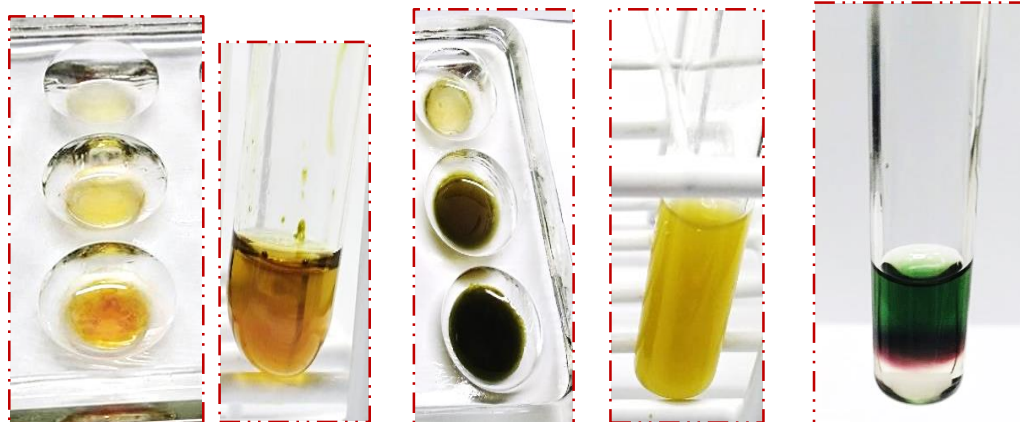
Anexo 3. Flujograma de procedimientos a seguir para la determinación de la actividad antioxidante de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca - coca” Ayacucho 2018



Anexo 4. Esquema para la identificación fitoquímica del extracto atomizado de las hojas *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.



Anexo 5. Resultados de la identificación fitoquímica del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.



Flavonoides - Ensayo de Shinoda

Fenoles y/o Taninos - Ensayo de Cloruro férrico

Saponinas - Ensayo de espuma

Triterpenos y/o Esteroides - Ensayo de Lieberman-Burchard



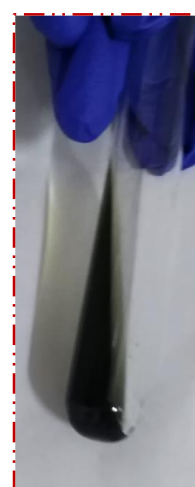
Quinonas - Ensayo de Borntrager



Alcaloides – ensayo de Dragendorff – Mayer - Wagner



Lactonas y/o Cumarinas - Ensayo de Baljet

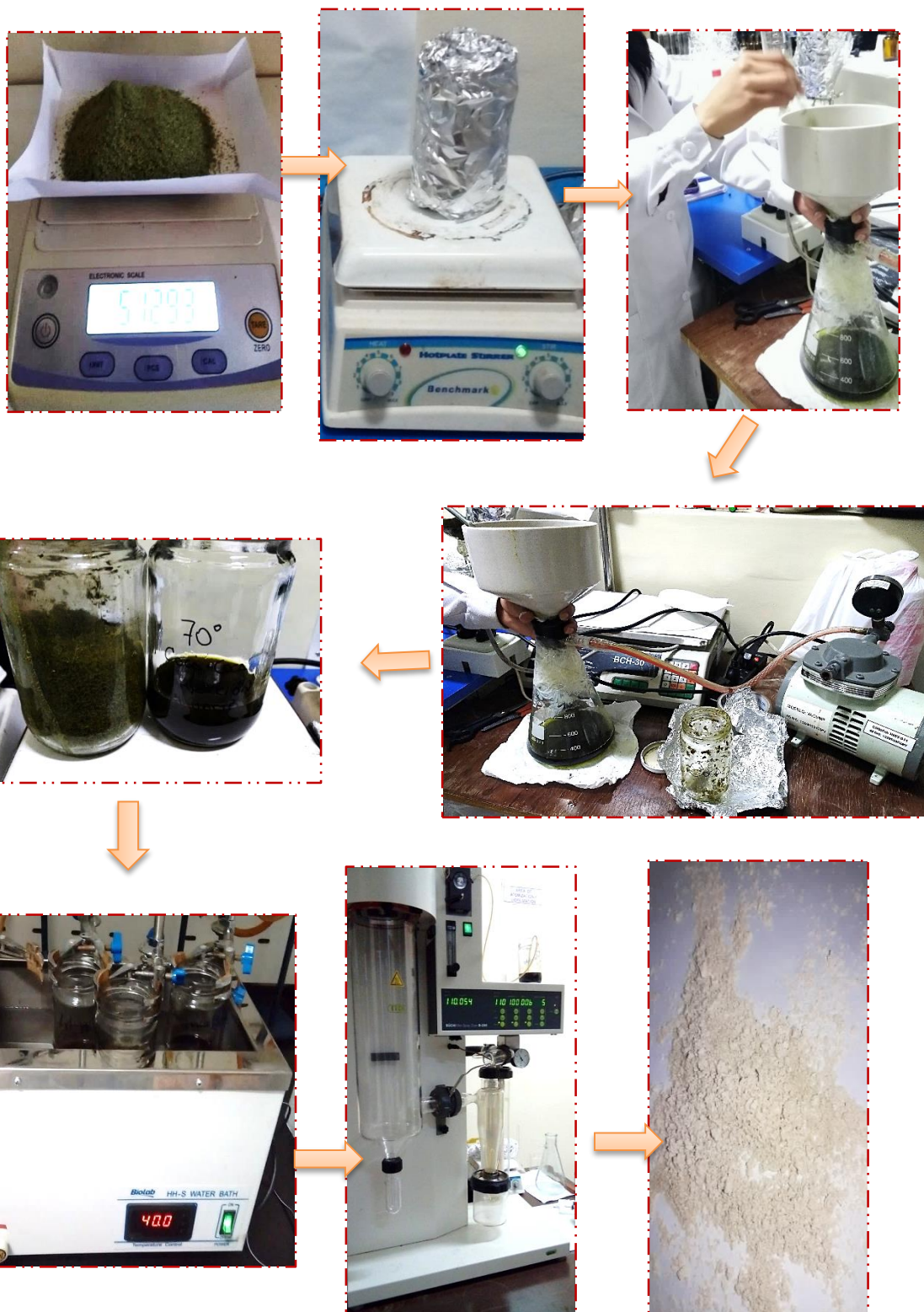


Azúcares reductores - Fehling



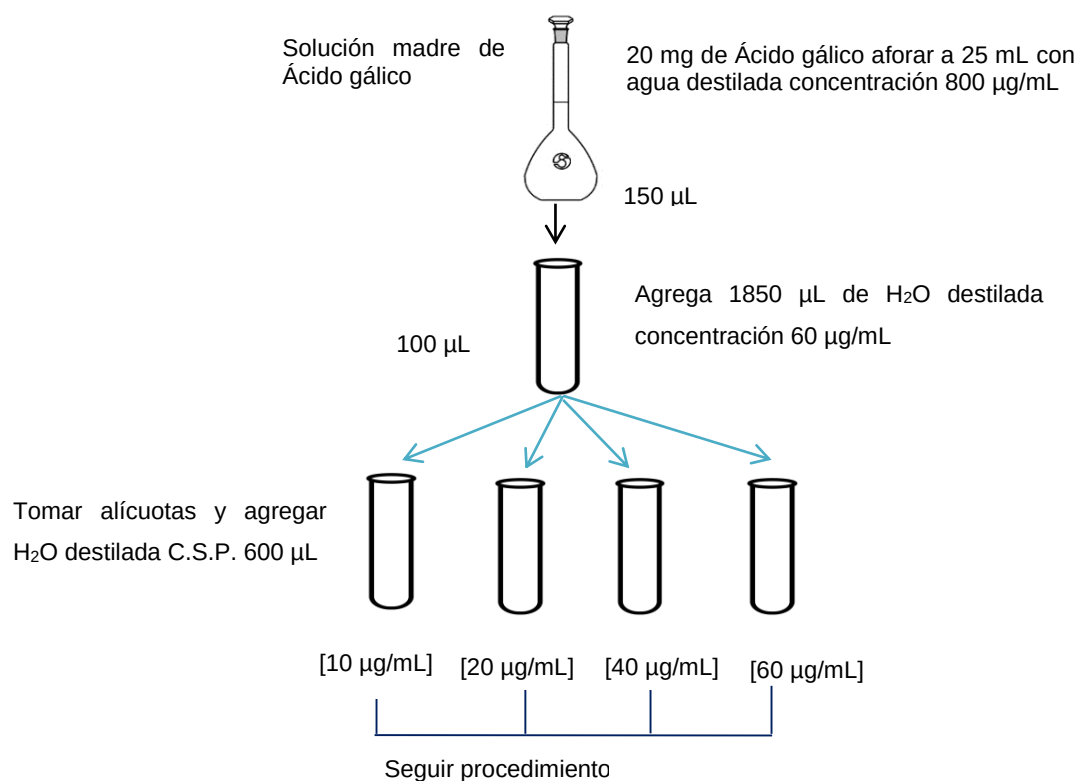
Ensayo de Kedde

Anexo 6. Preparación del extracto hidroalcohólico por filtrado al vacío de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Para la obtención del extracto atomizado. Ayacucho 2018.

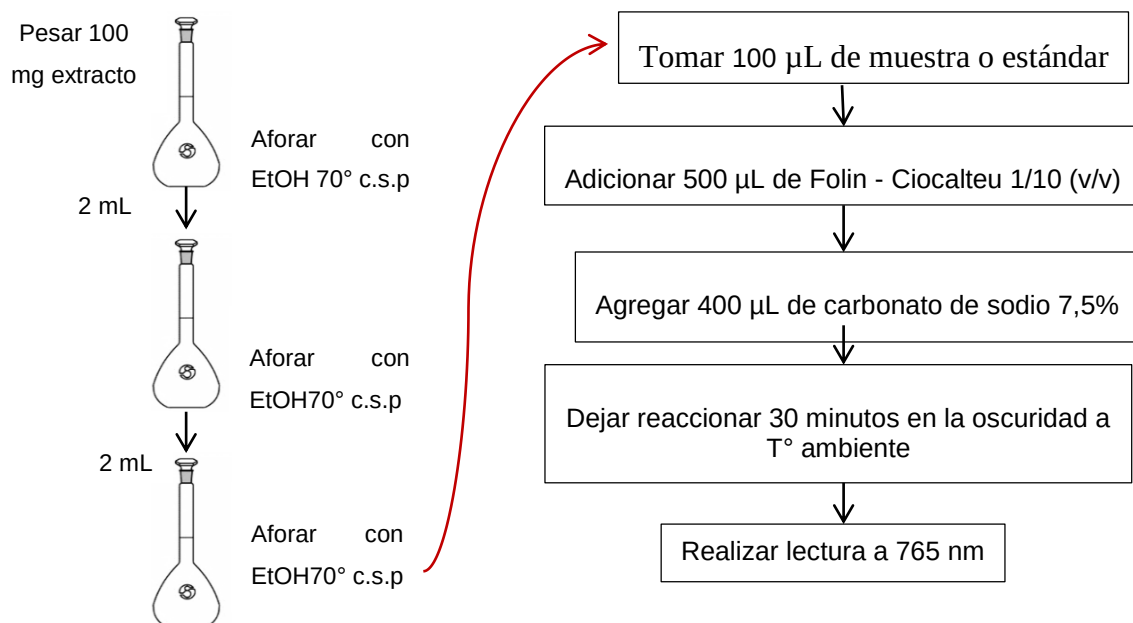


Anexo 7. Metodología para la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

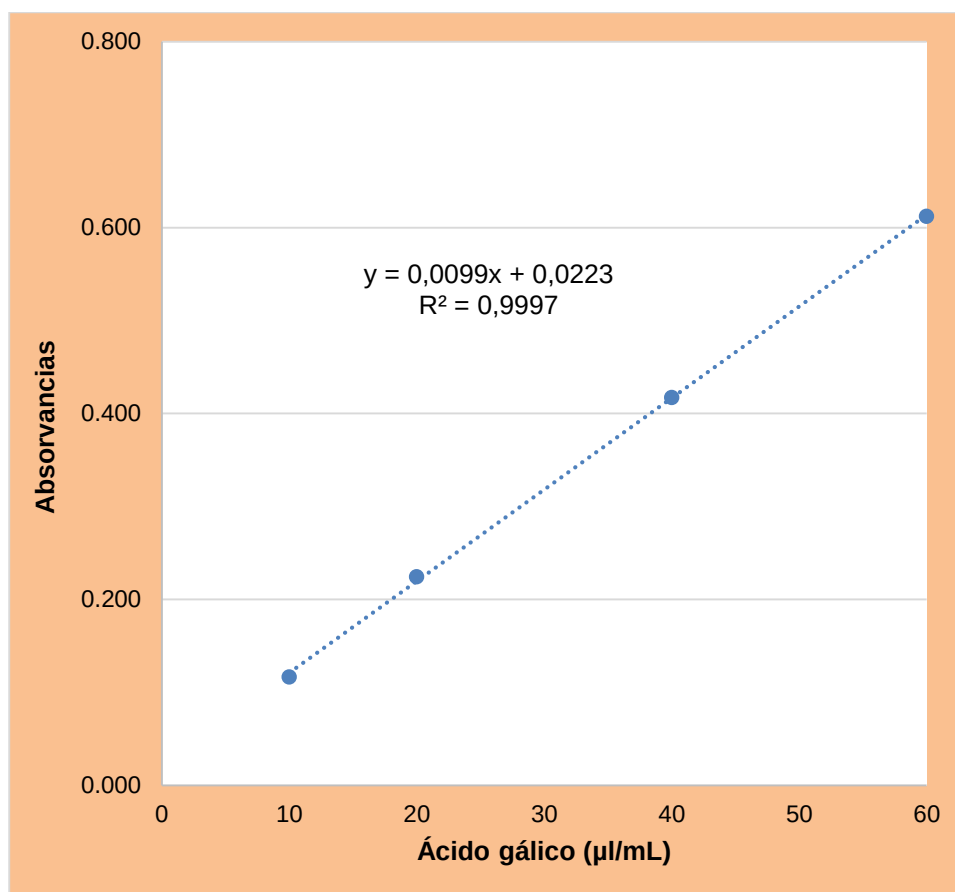
CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES



LECTURAS DE LA MUESTRA



Anexo 8. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.



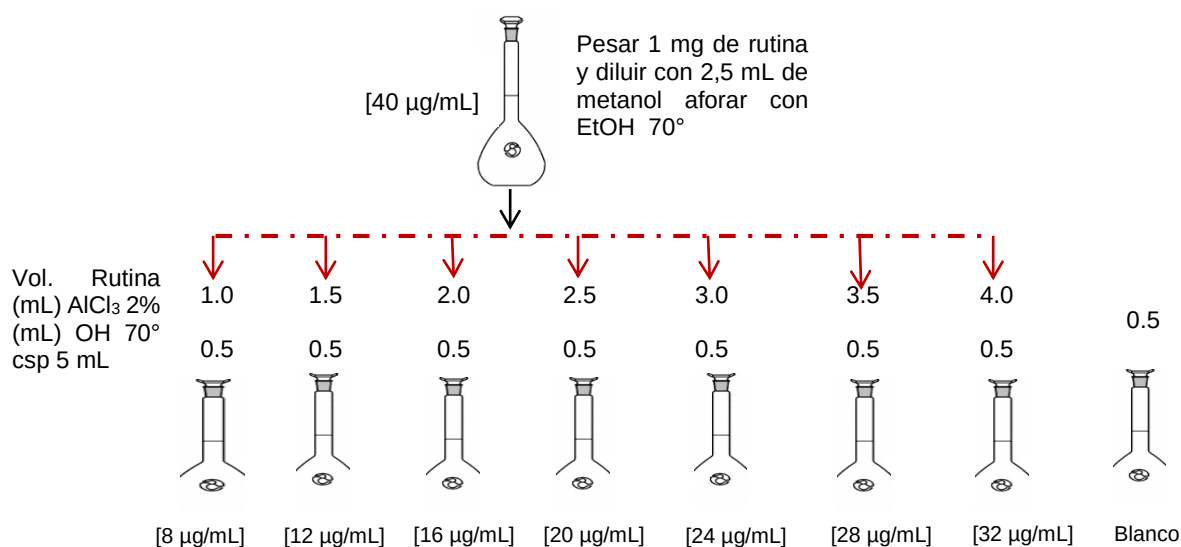
Anexo 9. Promedio de fenoles de cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación los límites superior, inferior y los promedios del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

Muestra	X	S	%CV	+/-	LI	LS
M1	359,5	0,395	0,11	0,98	358,52	360,49
M2	360,8	2,201	0,61	5,47	355,30	366,24
M3	357,9	0,539	0,15	1,34	356,58	359,26
X	359,4	0,820	0,23	2,04	357,36	361,44

Anexo 10. Protocolo para la determinación del contenido de Flavonoides totales en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

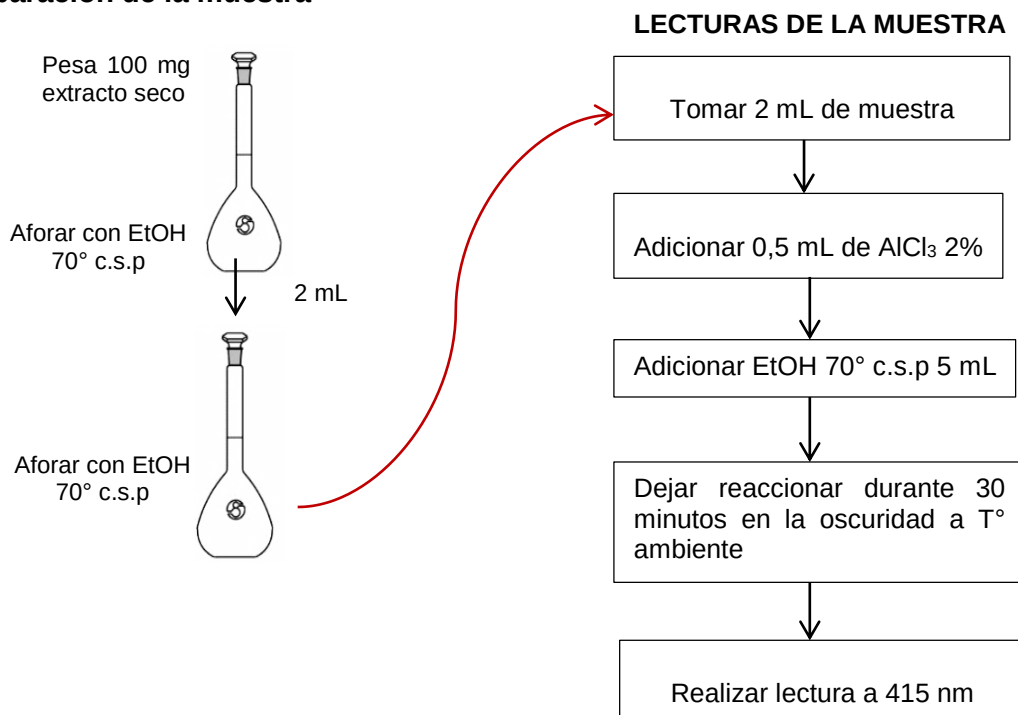
CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

Preparación de la curva de calibración de rutina

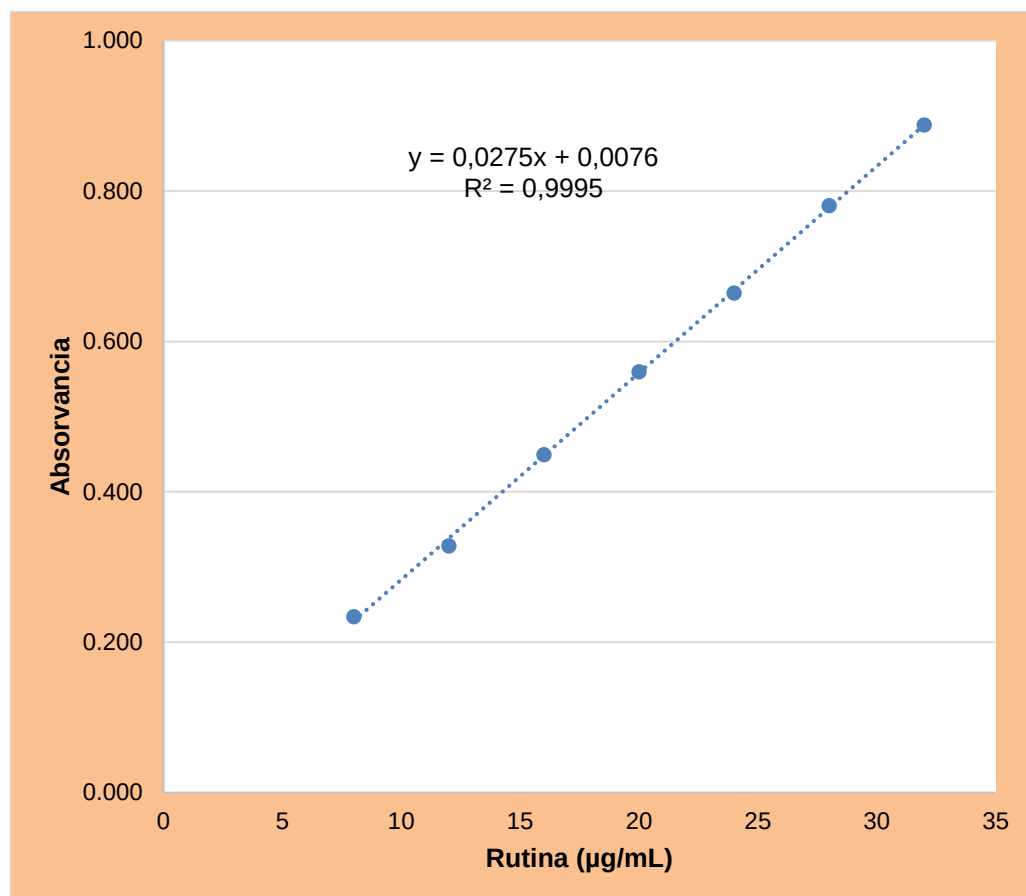


Dejar reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y leer la absorbancia a 415

Preparación de la muestra



Anexo 11. Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

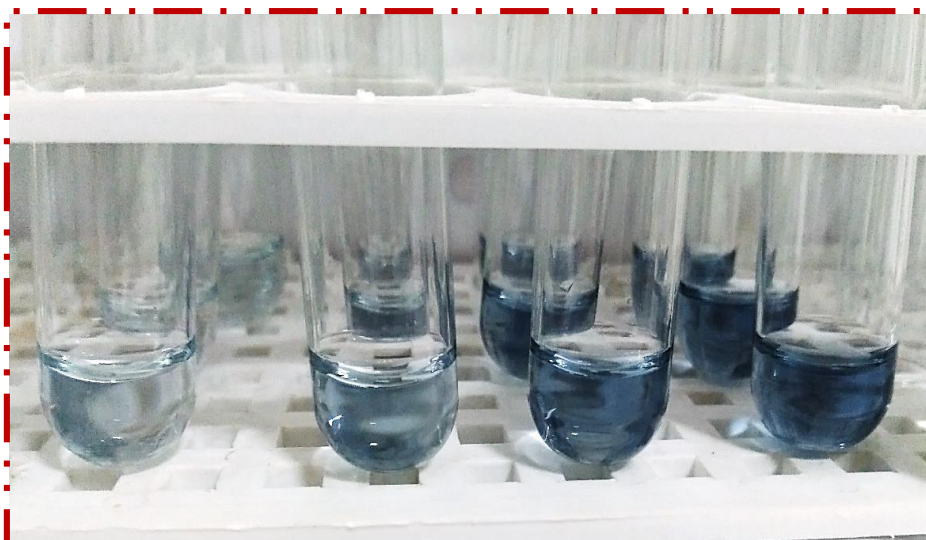


Anexo 12. Promedio de flavonoides de cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación, los límites superior, límites inferior y los promedios del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

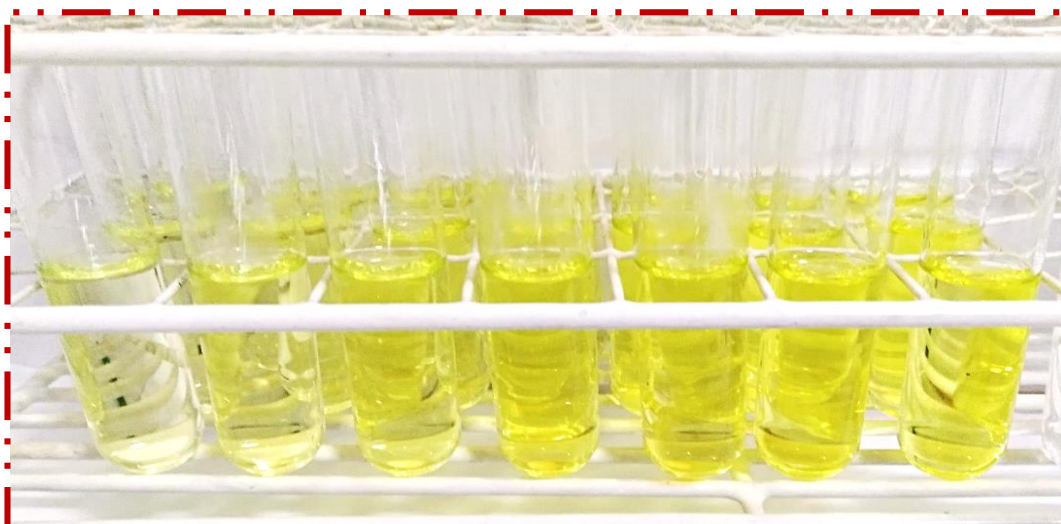
X	S	%CV	+/-	LI	LS
21,8	0,153	0,70	0,38	21,40	22,16
22,3	0,165	0,74	0,41	21,92	22,75
21,9	0,092	0,42	0,23	21,66	22,12
22,0	0,0	0,14	0,08	21,92	22,08

Anexo 13. Resultado de las coloraciones que presentaron los fenoles y flavonoides en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

FENOLES



FLAVONOIDES



MÉTODO DPPH

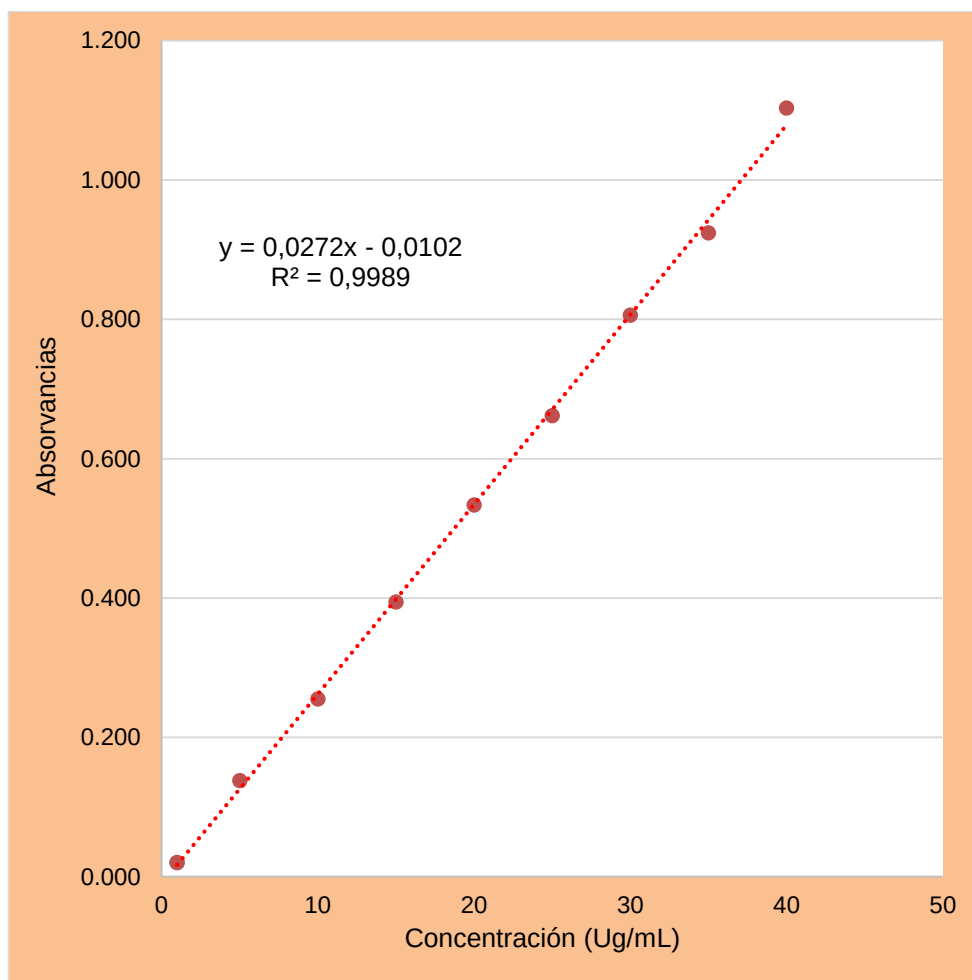
Preparación de la curva de calibración de DPPH



```

graph TD
    Muestra[Muestra] --> M1[Preparar una solución del extracto seco de Gaultheria glomerata Cav. (Sleumer) 500 µg/mL]
    Estándar[Estándar] --> E1[Pesar 5 mg de Trolox aforar con etanol 96° hasta 10 mL]
    M1 --> M2[Tomar alícuotas de 0,25; 0,5; 1; 1,5: 2 v 2,5 mL]
    E1 --> E2[Tomar alícuotas de 0,25; 0,5; 1; 1,5: 2 v 2,5 mL]
    M2 --> M3[Aforar a 5 mL con etanol 96°]
    E2 --> E3[Aforar a 5 mL con etanol 96°]
    M3 --> J1(( ))
    E3 --> J1
    J1 --> J2(( ))
    J2 --> J3(( ))
    J3 --> J4(( ))
    J4 --> J5(( ))
    J5 --> J6(( ))
    J6 --> J7(( ))
    J7 --> J8(( ))
    J8 --> J9(( ))
    J9 --> J10(( ))
    J10 --> J11(( ))
    J11 --> J12(( ))
    J12 --> J13(( ))
    J13 --> J14(( ))
    J14 --> J15(( ))
    J15 --> J16(( ))
    J16 --> J17(( ))
    J17 --> J18(( ))
    J18 --> J19(( ))
    J19 --> J20(( ))
    J20 --> J21(( ))
    J21 --> J22(( ))
    J22 --> J23(( ))
    J23 --> J24(( ))
    J24 --> J25(( ))
    J25 --> J26(( ))
    J26 --> J27(( ))
    J27 --> J28(( ))
    J28 --> J29(( ))
    J29 --> J30(( ))
    J30 --> J31(( ))
    J31 --> J32(( ))
    J32 --> J33(( ))
    J33 --> J34(( ))
    J34 --> J35(( ))
    J35 --> J36(( ))
    J36 --> J37(( ))
    J37 --> J38(( ))
    J38 --> J39(( ))
    J39 --> J40(( ))
    J40 --> J41(( ))
    J41 --> J42(( ))
    J42 --> J43(( ))
    J43 --> J44(( ))
    J44 --> J45(( ))
    J45 --> J46(( ))
    J46 --> J47(( ))
    J47 --> J48(( ))
    J48 --> J49(( ))
    J49 --> J50(( ))
    J50 --> J51(( ))
    J51 --> J52(( ))
    J52 --> J53(( ))
    J53 --> J54(( ))
    J54 --> J55(( ))
    J55 --> J56(( ))
    J56 --> J57(( ))
    J57 --> J58(( ))
    J58 --> J59(( ))
    J59 --> J60(( ))
    J60 --> J61(( ))
    J61 --> J62(( ))
    J62 --> J63(( ))
    J63 --> J64(( ))
    J64 --> J65(( ))
    J65 --> J66(( ))
    J66 --> J67(( ))
    J67 --> J68(( ))
    J68 --> J69(( ))
    J69 --> J70(( ))
    J70 --> J71(( ))
    J71 --> J72(( ))
    J72 --> J73(( ))
    J73 --> J74(( ))
    J74 --> J75(( ))
    J75 --> J76(( ))
    J76 --> J77(( ))
    J77 --> J78(( ))
    J78 --> J79(( ))
    J79 --> J80(( ))
    J80 --> J81(( ))
    J81 --> J82(( ))
    J82 --> J83(( ))
    J83 --> J84(( ))
    J84 --> J85(( ))
    J85 --> J86(( ))
    J86 --> J87(( ))
    J87 --> J88(( ))
    J88 --> J89(( ))
    J89 --> J90(( ))
    J90 --> J91(( ))
    J91 --> J92(( ))
    J92 --> J93(( ))
    J93 --> J94(( ))
    J94 --> J95(( ))
    J95 --> J96(( ))
    J96 --> J97(( ))
    J97 --> J98(( ))
    J98 --> J99(( ))
    J99 --> J100(( ))
    J100 --> J101(( ))
    J101 --> J102(( ))
    J102 --> J103(( ))
    J103 --> J104(( ))
    J104 --> J105(( ))
    J105 --> J106(( ))
    J106 --> J107(( ))
    J107 --> J108(( ))
    J108 --> J109(( ))
    J109 --> J110(( ))
    J110 --> J111(( ))
    J111 --> J112(( ))
    J112 --> J113(( ))
    J113 --> J114(( ))
    J114 --> J115(( ))
    J115 --> J116(( ))
    J116 --> J117(( ))
    J117 --> J118(( ))
    J118 --> J119(( ))
    J119 --> J120(( ))
    J120 --> J121(( ))
    J121 --> J122(( ))
    J122 --> J123(( ))
    J123 --> J124(( ))
    J124 --> J125(( ))
    J125 --> J126(( ))
    J126 --> J127(( ))
    J127 --> J128(( ))
    J128 --> J129(( ))
    J129 --> J130(( ))
    J130 --> J131(( ))
    J131 --> J132(( ))
    J132 --> J133(( ))
    J133 --> J134(( ))
    J134 --> J135(( ))
    J135 --> J136(( ))
    J136 --> J137(( ))
    J137 --> J138(( ))
    J138 --> J139(( ))
    J139 --> J140(( ))
    J140 --> J141(( ))
    J141 --> J142(( ))
    J142 --> J143(( ))
    J143 --> J144(( ))
    J144 --> J145(( ))
    J145 --> J146(( ))
    J146 --> J147(( ))
    J147 --> J148(( ))
    J148 --> J149(( ))
    J149 --> J150(( ))
    J150 --> J151(( ))
    J151 --> J152(( ))
    J152 --> J153(( ))
    J153 --> J154(( ))
    J154 --> J155(( ))
    J155 --> J156(( ))
    J156 --> J157(( ))
    J157 --> J158(( ))
    J158 --> J159(( ))
    J159 --> J160(( ))
    J160 --> J161(( ))
    J161 --> J162(( ))
    J162 --> J163(( ))
    J163 --> J164(( ))
    J164 --> J165(( ))
    J165 --> J166(( ))
    J166 --> J167(( ))
    J167 --> J168(( ))
    J168 --> J169(( ))
    J169 --> J170(( ))
    J170 --> J171(( ))
    J171 --> J172(( ))
    J172 --> J173(( ))
    J173 --> J174(( ))
    J174 --> J175(( ))
    J175 --> J176(( ))
    J176 --> J177(( ))
    J177 --> J178(( ))
    J178 --> J179(( ))
    J179 --> J180(( ))
    J180 --> J181(( ))
    J181 --> J182(( ))
    J182 --> J183(( ))
    J183 --> J184(( ))
    J184 --> J185(( ))
    J185 --> J186(( ))
    J186 --> J187(( ))
    J187 --> J188(( ))
    J188 --> J189(( ))
    J189 --> J190(( ))
    J190 --> J191(( ))
    J191 --> J192(( ))
    J192 --> J193(( ))
    J193 --> J194(( ))
    J194 --> J195(( ))
    J195 --> J196(( ))
    J196 --> J197(( ))
    J197 --> J198(( ))
    J198 --> J199(( ))
    J199 --> J200(( ))
    J200 --> J201(( ))
    J201 --> J202(( ))
    J202 --> J203(( ))
    J203 --> J204(( ))
    J204 --> J205(( ))
    J205 --> J206(( ))
    J206 --> J207(( ))
    J207 --> J208(( ))
    J208 --> J209(( ))
    J209 --> J210(( ))
    J210 --> J211(( ))
    J211 --> J212(( ))
    J212 --> J213(( ))
    J213 --> J214(( ))
    J214 --> J215(( ))
    J215 --> J216(( ))
    J216 --> J217(( ))
    J217 --> J218(( ))
    J218 --> J219(( ))
    J219 --> J220(( ))
    J220 --> J221(( ))
    J221 --> J222(( ))
    J222 --> J223(( ))
    J223 --> J224(( ))
    J224 --> J225(( ))
    J225 --> J226(( ))
    J226 --> J227(( ))
    J227 --> J228(( ))
    J228 --> J229(( ))
    J229 --> J230(( ))
    J230 --> J231(( ))
    J231 --> J232(( ))
    J232 --> J233(( ))
    J233 --> J234(( ))
    J234 --> J235(( ))
    J235 --> J236(( ))
    J236 --> J237(( ))
    J237 --> J238(( ))
    J238 --> J239(( ))
    J239 --> J240(( ))
    J240 --> J241(( ))
    J241 --> J242(( ))
    J242 --> J243(( ))
    J243 --> J244(( ))
    J244 --> J245(( ))
    J245 --> J246(( ))
    J246 --> J247(( ))
    J247 --> J248(( ))
    J248 --> J249(( ))
    J249 --> J250(( ))
    J250 --> J251(( ))
    J251 --> J252(( ))
    J252 --> J253(( ))
    J253 --> J254(( ))
   
```

Anexo 15. Curva de calibración para la determinación de la actividad antioxidante, según el método DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.



Anexo 16. Porcentaje de la actividad antioxidante de Trolox en DPPH de cada lectura: desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

E.A. [µg/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

Anexo17. Porcentaje de la actividad antioxidante de la muestra en DPPH cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

E.A. [µg/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	12,09	0,395	3,266	0,98	13,07	11,11
50	21,14	0,324	1,530	0,80	21,95	20,34
100	48,95	0,395	0,807	0,98	49,94	47,97
150	60,13	0,122	0,203	0,30	60,43	59,83
200	78,43	0,289	0,368	0,72	79,15	77,71
250	90,65	0,167	0,184	0,41	91,07	90,24

Anexo 18. Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	13920,9	5,0	2784,2	24654,5	1,25 x 10 ⁻²³
Dentro de grupos	1,4	12,0	0,1		
Total	13922,2	17			

Si sig > 0,05 todos los tratamientos son estadísticamente similares

Si sig < 0,05 por lo menos uno de los tratamientos es diferente del resto

Anexo 19. Comparación múltiple de la prueba de Duncan de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH según concentración del extracto atomizado y Trolox de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
mp 25 µg/mL	3	12,1					
mp 50 µg/mL	3		21,1				
mp 100 µg/mL	3			49,0			
Trolox 25 µg/mL	3				25,1		
Trolox 50 µg/mL	3					52,5	
Trolox 100 µg/mL	3						95,6
Sig.	0	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

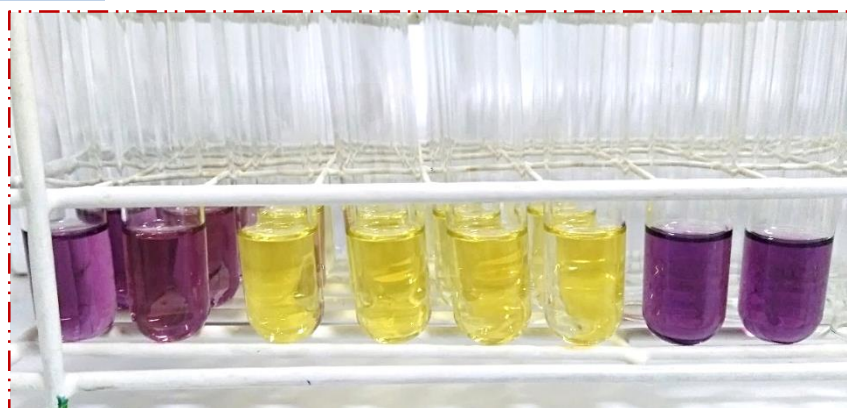
Anexo 20. Prueba de Levene de igualdad de varianzas del CI_{50} , mediante captación del radical DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

	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	13,94	0,0202	-328,30	4	$5,16 \times 10^{-10}$	-67,47666667	0,21	-68,05	-66,91
No se asumen varianzas iguales			-328,30	2,014	0,0000	-67,47666667	0,21	-68,36	-66,60

Anexo 21. Resultado de las coloraciones que presentaron el estudio de DPPH en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.



ESTANDAR



MUESTRA



Anexo 22. Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

MÉTODO ABTS

ABTS 7mM

Pesar 19.202 mg de ABTS aforar la solución a 5 mL. con agua destilada

Persulfato de potasio 2.45mM

Pesar 3.3 mg de persulfato de potasio, aforar la solución a 5mL. con agua destilada.

Preparación del radical ABTS

En un frasco ámbar colocar 5mL de solución madre de ABTS 7mM y 5 mL de la solución de persulfato de potasio 2.45mM, homogenizar y cubrir con papel aluminio. La solución se debe incubar de 12 a 16 horas a T° ambiente antes de su utilización.

Preparación de la solución de trabajo diario

Diluir aproximadamente 1.5mL del radical formado con 50mL de OH 96°, hasta obtener en valor de ABTS entre 0,70 ($\pm$ 0,2) a 734 nm.

Determinación de la actividad antioxidante

Muestra

Preparar una solución del extracto seco de 12.5mg *Gaultheria glomerata* equivalente a 500µg/mL

Tomar alícuotas de 0.25; 0.5; 1; 1.5; 2 y 2.5mL

Aforar a 5 mL con etanol 96°

Estándar

Pesar 5mg de Trolox, aforar con etanol 96° hasta 10mL (500µg/mL)

Tomar alícuotas de 0.25; 0.5; 1; 1.5; 2 y 2.5mL

Aforar a 5 mL con etanol 96°

Tomar 20 µl de muestra o estándar

Adicionar 980 µl del sol. De trabajo ABTS

Incubar en la oscuridad a T° ambiente durante 6 minutos

Leer en espectrofotómetro a 734 nm

Anexo 23. Porcentaje de la actividad antioxidante de Trolox en ABTS de cada lectura: desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

E.A. [µg/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	8,02	0,785	9,781	1,95	9,97	6,07
50	23,27	0,373	1,602	0,93	24,19	22,34
100	36,17	0,244	0,675	0,61	36,78	35,57
150	53,61	0,254	0,474	0,63	54,24	52,98
200	68,01	0,854	1,256	2,12	70,13	65,89
250	82,76	0,898	1,085	2,23	84,99	80,53

Anexo 24. Porcentaje de la actividad antioxidante de la muestra en ABTS cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

E.A. [µg/ml]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	10,37	0,351	3,383	0,87	11,24	9,50
50	18,01	0,122	0,675	0,30	18,31	17,70
100	43,65	0,427	0,978	1,06	44,71	42,59
150	47,22	0,070	0,149	0,17	47,40	47,05
200	57,24	0,791	1,381	1,96	59,21	55,28
250	66,42	0,573	0,862	1,42	67,84	64,99

Anexo 25. Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2389,0	5,0	477,8	744,9	1,6 x 10 ⁻¹⁴
Dentro de grupos	7,7	12,0	0,6		
Total	2396,7	17			

Si sig > 0,05 todos los tratamientos son estadísticamente similares

Si sig < 0,05 por lo menos uno de los tratamientos es diferente del resto

Anexo 26. Comparación múltiple de la prueba de Duncan de la actividad antioxidante mediante captación de radical ABTS según concentración del extracto atomizado y Trolox de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
mp 150 µg/mL	3	47,2					
mp 200 µg/mL	3		57,2				
mp 250 µg/mL	3			66,4			
Trolox 150 µg/mL	3				53,6		
Trolox 200 µg/mL	3					68,0	
Trolox 250 µg/mL	3						82,8
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Anexo 27. Prueba de Levene de igualdad de varianzas del C150, mediante captación del radical ABTS del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

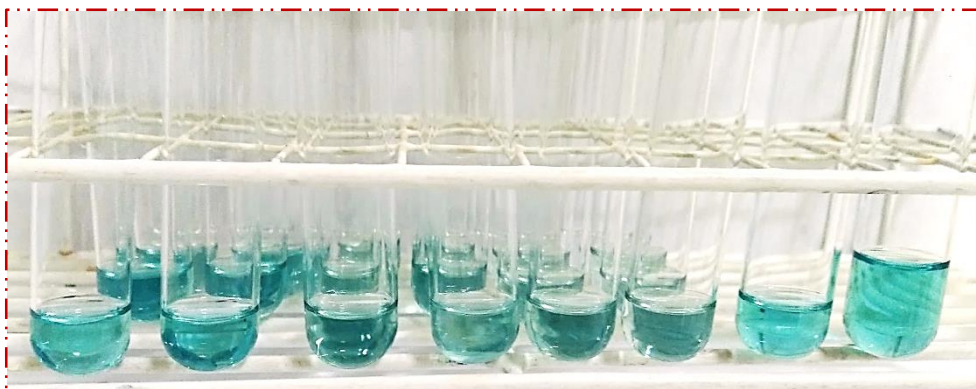
	Prueba de Levene de igualdad de varianzas prueba t para la igualdad de medias								
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	0,96	0,3818	-35,23	4	3,87x10 ⁻⁰⁶	-24,58333333	0,70	-26,52	-22,65
No se asumen varianzas iguales			-35,23	3,571	0,0000	-24,58333333	0,70	-26,62	-22,55

Anexo 28. Resultado de las coloraciones que presento el estudio de antioxidante ABTS del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

ESTANDAR



MUESTRA



Anexo 29. Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

MÉTODO FRAP

Preparación de reactivos

a) Buffer acetato de sodio 0.3 mM pH 3.6

Pesar 6.15 mg de acetato de sodio y adicionar 2mL de Ac. Acet. Glac, aforar la solución a 250mL con agua destilada. Ajustar el pH si es necesario.

b) Sol. TPTZ 10 mM

Pesar 78 mg de TPTZ y aforar a 25 mL con HCl 40mM

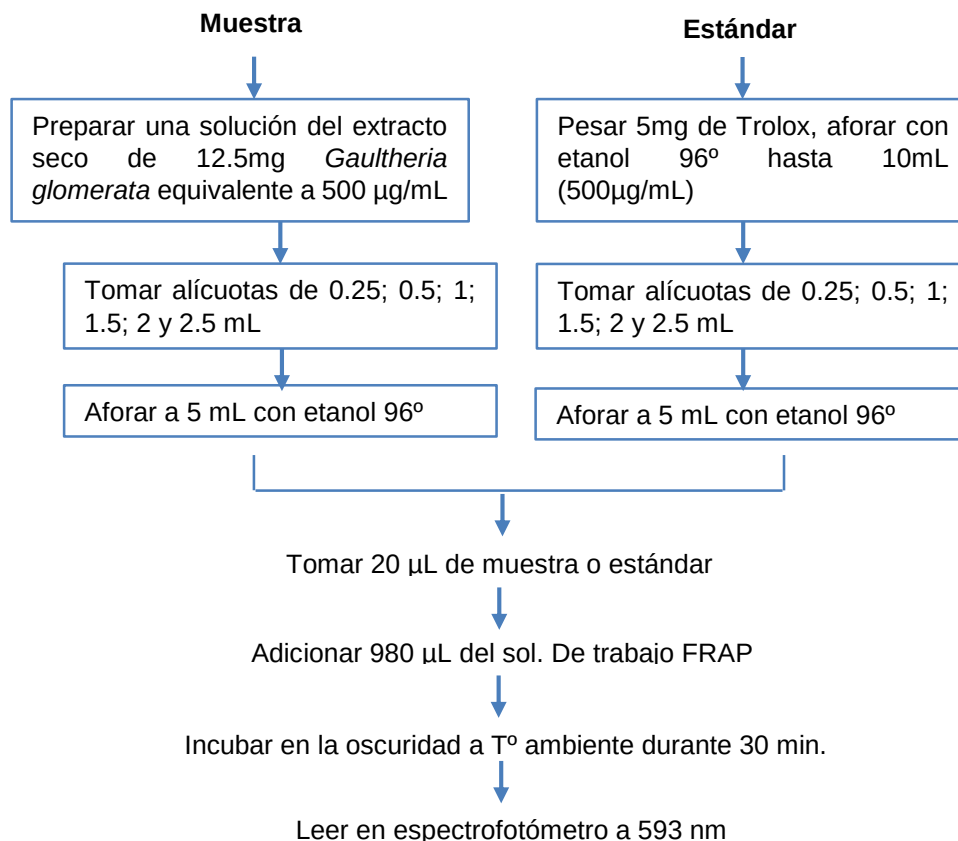
c) Sol. $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 20mM

Pesar 135.2 mg de cloruro férrico y aforar a 25mL con agua destilada.
Ojo: preparar cada día

Preparación de la solución de trabajo

- Mezclar 25 mL de buffer acetato de sodio + 2,5 mL de TPTZ y 2,5 mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- Calentar la solución en baño maría a 37°C y mantener a esa temperatura durante todo el trabajo.
- HCl 40 mM --> 535 μL de HCl c en 100 mL de agua destilada

Determinación de la actividad antioxidante



Anexo 30. Porcentaje de la actividad antioxidante de Trolox en FRAP de cada lectura: desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

E.A. [µg/ml]	TX	S	%CV	+/-	LS	LI
25	47,53	0,615	1,294	1,53	49,06	46,01
50	63,44	0,533	0,839	1,32	64,77	62,12
100	78,06	0,132	0,169	0,33	78,39	77,74
150	84,58	0,076	0,090	0,19	84,77	84,39
200	87,26	0,044	0,051	0,11	87,37	87,15
250	90,28	0,016	0,018	0,04	90,32	90,24

Anexo 31. Porcentaje de la actividad antioxidante de la muestra en FRAP cada lectura, desviación estándar, coeficiente de variación, límite superior, límite inferior y promedios del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

E.A. [µg/ml]	X _{50°}	S	%CV	+/-	LS	LI
25	38,05	0,871	2,288	2,16	40,22	35,89
50	56,74	0,832	1,467	2,07	58,81	54,67
100	76,64	0,081	0,105	0,20	76,84	76,44
150	77,90	0,133	0,171	0,33	78,23	77,57
200	82,62	0,147	0,178	0,37	82,98	82,25
250	84,98	0,051	0,060	0,13	85,10	84,85

Anexo 32. Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical FRAP en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3788,9	5,0	757,8	1417,0	$3,4 \times 10^{-16}$
Dentro de grupos	6,4	12,0	0,5		
Total	3795,3	17			

Si sig > 0,05 todos los tratamientos son estadísticamente similares

Si sig < 0,05 por lo menos uno de los tratamientos es diferente del resto

Anexo 33. Comparación múltiple de la prueba de Duncan de la actividad antioxidante mediante captación del radical FRAP según concentración del extracto atomizado y Trolox de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
Muestra 25 µg/mL	3	38,1					
Muestra 50 µg/mL	3		56,7				
Muestra 100 µg/mL	3			76,6			
Trolox 25 µg/mL	3				47,5		
Trolox 50 µg/mL	3					63,4	
Trolox 100 µg/mL	3						78,1
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Anexo 34. Prueba de Levene de igualdad de varianzas del CI50, mediante captación del radical FRAP del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

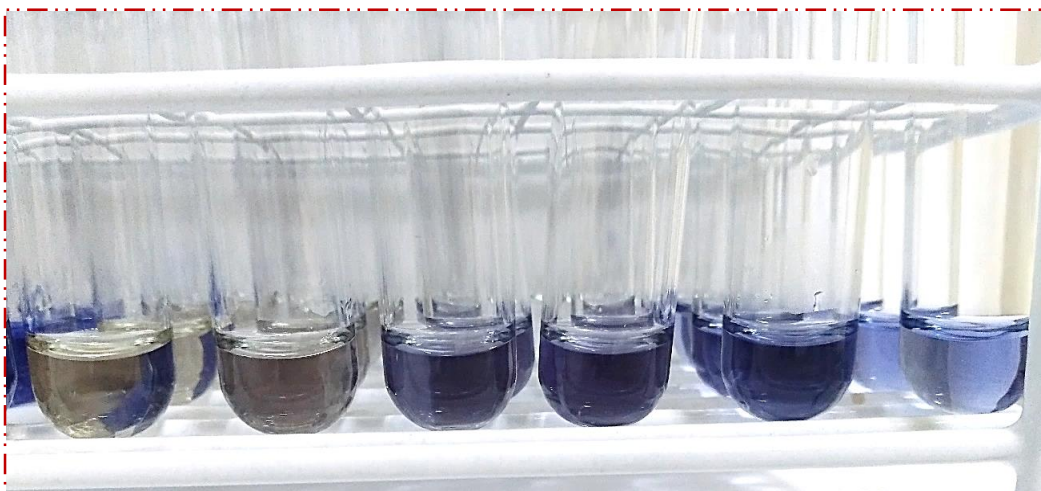
	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		de prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	1,61	0,2736	-17,11	4	6,84x10 ⁻⁵	-11,83	0,69	-13,75	-9,91
No se asumen varianzas iguales			-17,11	2,832	0,0006	-11,83	0,69	-14,11	-9,55

Anexo 35. Resultado de las coloraciones que presento el estudio de antioxidante FRAP en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho 2018.

ESTANDAR



MUESTRA



ANEXO 36. Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPOTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGIA
Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer. "coca – coca".	¿Cuál será el contenido de fenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante de las hojas de la <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer?	Objetivo general Evaluar el contenido de fenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer "coca – coca" Objetivos específicos • Identificar los metabolitos presentes en las hojas del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer. "coca – coca" • Cuantificar el contenido de fenoles totales del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer. "coca – coca" • Cuantificar el contenido de flavonoides del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) sleumer. "coca – coca" • Evaluar la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer. "coca – coca"	Descripción botánica de la especie <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer La raíz, rizomatosa postrada, con tallos, maduros y ramitas terete, de corteza, marrón rojizo; brotes teretes, las hojas, coriáceas, ovadas, inflorescencia, axilar, racemoso raquis subterete, sin ángulos, bractéolas. COMPOSICIÓN QUIMICA El aceite de <i>gaultheria</i> se compone sobre todo de salicilato de metilo (de un 85 a 99 por ciento), que representa casi todas las increíbles propiedades curativas de este aceite esencial. También contiene guaia diene, a-pineno, mirceno, delta-careno, limoneno y delta-cadineno. RADICALES LIBRES Un radical libre (RL) es cualquier especie química ya sea atómica o molecular, capaz de existir independientemente y que contiene uno o más electrones desapareados en el orbital más externo. ANTIOXIDANTES Son sustancias cuya acción consiste en inhibir las tasas de oxidación de los nocivos radicales libres (disminuyen las defensas, producen daño celular con la posibilidad de producir cáncer, aterosclerosis y envejecimiento).	La <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) sleumer es una fuente de compuestos bioactivos, tales como fenoles y flavonoides, con actividad antioxidante	Variable 1 Fenoles totales Indicador Equivalentes de ácido gálico (mg/g) Variable 2 Flavonoides totales Indicador Equivalentes de rutina (mg/g) Variable 3 Actividad antioxidante Indicadores Porcentaje de inhibición (%), TEAC	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN Tipo de investigación Descriptivo POBLACIÓN: Hojas de <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer, que crecen en zonas áridas, del centro poblado de Waraca anexo Anchachuasi provincia de Vinchos del departamento de Ayacucho. MUESTRA: Hojas desecadas de <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer, recolectadas durante el mes de mayo-junio, siguiendo las recomendaciones establecidas para estos casos. DISEÑO METODOLÓGICO: Se recolectará y se secará la muestra <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer, La obtención del extracto hidroalcohólico con alcohol de 70°, prosiguiendo con obtener el extracto atomizado. La identificación de los compuestos químicos, se realizará siguiendo el procedimiento descrito en Pérez et al, Se determinó la concentración de compuestos fenólicos totales usando el método de Stintzing et al, el cual utiliza el reactivo de Folin-Ciocalteu. Se determinó la concentración de flavonoides. La evaluación de la actividad antioxidante, se determinará por los métodos DPPH, ABTS y FRAP. Se determinó el análisis estadístico mediante el análisis de varianza (ANOVA).

Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. “coca – coca” Ayacucho – 2018.

Yohana Ore Zamora¹, Marco R. Aronés Jara², Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica – Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

La finalidad de esta investigación fue evaluar el contenido de fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de la *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca – coca”, el cual se desarrolló en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Las muestras fueron recolectadas en el centro poblado de Huaraca del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, con un tipo de investigación descriptiva. Se realizó el tamizaje fitoquímico, prosiguiendo con la determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides, por los métodos de Folin-Ciocalteu y tricloruro de aluminio (AlCl₃) respectivamente, se continuó determinando la actividad antioxidante por los métodos de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) y FRAP (Poder antioxidante reductor del hierro), analizando asimismo el coeficiente de inhibición al 50%. Los resultados en la identificación de metabolitos secundarios fue la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, triterpenos y/o esteroides, lactonas y/o cumarinas y cardiotónicos. En la cuantificación de fenoles totales fue de 359,4 mgGAE/g de extracto seco y en los flavonoides fue de 22,0 mgRuE/g de extracto seco, en los ensayos de la actividad antioxidante se obtuvo 48,95 mg/g para DPPH, 66,42 mg/g para ABTS y 76,64mg/g para FRAP, con un coeficiente de inhibición al 50% (IC₅₀) de 106,1 µg/mL, 169,3 µg/mL y 39,1 µg/mL respectivamente. En conclusión, las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, contiene alto contenido de fenoles totales y bajo en flavonoides, por lo tanto, cuenta con gran actividad antioxidante.

Palabras claves: *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, fenoles totales, flavonoides totales, Antioxidantes, coca-coca.

SUMMARY

The purpose of this research was to evaluate the content of total phenols, flavonoids and antioxidant capacity of the atomized extract of the leaves of the *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca-coca”, which was developed at the Center for Development, Analysis and Quality Control of Medicines and Phytomedication (CEDACMEF) of the National University San Cristóbal de Huamanga. The samples were collected in the town of Huaraca in the district of Vinchos, province of Huamanga, with a type of descriptive research. Phytochemical screening was carried out, continuing with the determination of the content of total phenols and flavonoids, by the Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride (AlCl₃) methods respectively, the antioxidant activity was continued by the DPPH methods (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil), ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and FRAP (antioxidant iron reducing power), also analyzing the 50% inhibition coefficient. The identification of secondary metabolites was the presence of flavonoids, phenolic and / or tannin compounds, triterpenes and / or steroids, lactones and / or coumarins and cardiotonics. In the quantification of total phenols was 359.4 mgGAE / g of dry extract and in the flavonoids it was 22.0 mgRuE / g of dry extract, in the tests of the antioxidant activity 48.95 mg / g for DPPH, 66.42 mg / g for ABTS and 76.64mg / g for FRAP were obtained, with a 50% inhibition coefficient (IC₅₀) of 106.1 µg/mL, 169.3 µg/mL and 39.1 µg/mL respectively. In conclusion, the leaves of *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, contain high content of total phenols and low in flavonoids, therefore, it has great antioxidant activity.

Keywords: *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, total phenols, total flavonoids, Antioxidants, coca-coca

1. Tesista bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica - UNSCH

2. Magister adscrito al Departamento Académico de Medicina Humana, Fac. de Ciencias de la Salud -UNSCH

I. INTRODUCCION

Medicina tradicional debe ser la base para el desarrollo de drogas, ya que esto incluye el conocimiento del valor terapéutico de la flora. Por lo tanto, el conocimiento de las prácticas médicas tradicionales juega un rol crucial para la selección de especies a ser posteriormente consideradas como fuentes potenciales de drogas universalmente aplicables¹.

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, actualmente es evidente que exista una relación entre alimentación y las enfermedades crónico – degenerativas, las cuales también se relacionan directamente con los radicales libres, los cuales están asociados con una serie de patologías que afectan masivamente a la población, esto es debido en gran parte al estrés oxidativo generado².

Los compuestos fenólicos tienen una gran capacidad antioxidante, dentro de esta gran familia pueden encontrarse tres grupos principales: ácidos fenólicos, los polifenoles y los flavonoides, siendo estos últimos el grupo más común. Los antioxidantes de las plantas se deben principalmente a la presencia de compuestos fenólicos, los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidrógenos y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas³.

Son capaces de inhibir procesos de oxidación en alimentos y de envejecimiento celular. La oxidación de grasas, aceites hace que experimenten transformaciones que reducen su calidad nutritiva y se produzcan compuestos volátiles que generan olores y sabores indeseables. Esta oxidación puede ser minimizada por los extractos de las plantas, ya que actúan neutralizando los radicales libres que se forman en la primera etapa de la oxidación y ello permite que puedan sustituir, al menos parcialmente, a los antioxidantes sintéticos, potencialmente tóxicos⁴.

La mayoría de las preparaciones de hierbas se prepararon con las hojas de las plantas (35%), toda la planta (21,25%) y tallos (17,5%). Esto indica que los curanderos locales cuentan con un conocimiento muy bien desarrollado sobre las propiedades de diferentes partes de la planta. En el 60% de

los casos se utilizó material vegetal fresco para preparar remedios, que difiere del modo promedio de preparado de hierbas en el Perú. Sólo alrededor del 55% de los recursos se aplicaron por vía oral, mientras que los restantes se aplicaron tópicamente¹.

Las técnicas más utilizadas para determinar la capacidad antioxidante son el DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), ABTS (ácido azino-bis2.2 (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) y FRAP (actividad férrico reductora/poder antioxidante); con la técnica del espectrofotómetro, para el análisis de los métodos se empleó el reactivo patrón Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) un análogo hidrosoluble de la vitamina E.

El análisis de contenido de fenoles totales se realizó por el método de espectrofotometría de Folin-Ciocalteu, para lo cual se usó ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia, para el contenido de los flavonoides totales se empleó el reactivo tricloruro de aluminio (AlCl₃). Utilizando la rutina como el compuesto flavonoide de referencia.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Evaluar el contenido de fenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de la *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. Ayacucho 2018.

1.1.2. Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos presentes en las hojas del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. “coca - coca”.
- Cuantificar el contenido de fenoles totales del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. “coca - coca”.
- Cuantificar el contenido de flavonoides del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. “coca - coca”.
- Evaluar la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. “coca - coca”.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo se ejecutó en el laboratorio de 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.

2.2. Definición de Población y muestra

2.2.1. Población

Las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer que crecen en zonas áridas, del centro poblado de Huaraca, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga departamento de Ayacucho.

2.2.2. Muestra

De 2 kg de hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, recolectadas en el centro poblado de Huaraca del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a una altura de 3129 m.s.n.m.

2.2.3. Unidad de análisis

40g de extracto seco de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer "coca – coca"

2.3. Metodología y recolección de datos

2.3.1. Recolección de la muestra

Las muestras de las hojas se recolecto en estado de madurez por la mañana y transportada a los laboratorios de la Escuela de Farmacia. Se secó a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, sombreado en tendeles de papel bond, removiendo el vegetal cada 24 horas para evitar su descomposición, por un periodo de ocho días según las directrices OMS³⁵.

2.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico

Luego del secado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer se redujo el tamaño de partícula utilizando un mortero, hasta obtener un pulverizado uniforme, luego se pesa 20 g de muestra para ser humectada en un frasco ámbar para su maceración, cubriéndolo con alcohol de 70° hasta una altura de 1 -2 cm por encima de la muestra, durante 24 horas

en el agitador magnético, Luego del tiempo de humectación se transfirió la muestra al equipo de filtrado al vacío, moviendo constantemente la muestra para extraer la mayor cantidad posible, se recibió el filtrado y se guardó en un frasco cubriendo con papel aluminio³⁶.

2.3.3. Obtención del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer)

Se llevó la muestra a baño maría a una temperatura de 40°C, con el fin de destilar el alcohol de la muestra, llegando hasta un promedio entre 1 - 2 grados de alcohol el cual favorece a la mejor atomización del extracto. Se atomizó la muestra con el uso del atomizador Mini Spray Dryer B-290 y el producto obtenido se envaso en un recipiente herméticamente cerrado, debido a que el extracto atomizado es muy higroscópico³⁶.

2.3.4. Ensayo fitoquímico del extracto atomizado

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, se realizaron siguiendo los procedimientos de Pérez et al.³⁷, Miranda y Cuellar³⁸.

2.3.5. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado

Al extracto atomizado, se evaluó los parámetros físico-químicos³⁹.

2.4. Determinación de contenido de fenoles totales

Se determinó el contenido de fenoles totales mediante el método de espectrofotometría de Folin-Ciocalteu, para lo cual se usó el ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia¹¹.

Este método se fundamenta en su carácter reductor y seguida neutralización. Consiste 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 espectrofotómetro 765nm⁴⁰.

2.4.1. Preparación de la curva de calibración de ácido gálico

Se pesó 20 mg de ácido gálico, se disolvió con agua destilada y se enrazó a un volumen de 25 ml para obtener una solución stock de 800 µg/mL. de esta solución madre de prepararan soluciones estándares de 10, 20, 40, 60 µg/mL. A partir de los estándares se toman alícuotas de 100 µL, 500 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 400 µL de carbonato de sodio 7,5 %. Transcurridos los 30 minutos se mide la absorbancia 765 nm. Se usó la solución preparada sin la muestra como blanco. Diluir el reactivo Folin 1/10 con agua destilada.

2.4.2. Procedimiento para la preparación de la muestra:

Se pesó 100 mg del extracto seco llevado a dilución de 10 mL con etanol de 70°, se extrajo 2 mL de esta dilución se llevó a una fiola 25 mL aforado con etanol de 70° y por ultimo de extrajo 2 mL de la última dilución llevado una fiola de 5 mL aforado con etanol de 70° (solución muestra) tomar 100 µL de las muestras convenientemente diluidas, tomar 500 µL del reactivo Folin – Ciocalteu 1:10, adicionar 400 µL de una solución de carbonato de sodio al 7,5 %, se mezcló en un tubo de ensayo, se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 30 minutos, se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 765nm utilizando un espectrofotómetro; El contenido de fenoles totales se expresará en miligramos de equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de material vegetal seco, a partir de una curva de calibración del estándar ácido gálico de 10 a 60 µg/mL.

2.5. Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales será determinado por el método de Palomino,⁴¹ Empleando el reactivo AlCl₃. Utilizando la rutina como el compuesto flavonoide de referencia.

2.5.1. Preparación de la curva de calibración de rutina solución madre de rutina

Se pesó 1 mg de rutina, vertido en un matraz de 25 mL, se disolvió con 2,5 mL de metanol y aforar a volumen con etanol de 70°. De esta solución stock se tomó directamente de 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 y 4 mL;

0,5 mL de tricloruro de aluminio y etanol al 50 % cantidad suficiente para 5 mL; el blanco se prepara de igual forma sin la muestra⁴². Dejar reposar 30 minutos y luego realizar las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 415 nm.

2.5.2. Procedimiento de la preparación de la muestra

Se pesó 100 mg del extracto seco y llevar a diluciones de 10 mL y 25 mL aforado con etanol 70 % (solución muestra). A partir de la última dilución se tomó una alícuota de 2 mL y se transfirió a un volumétrico de 5 mL, se adicionó a continuación 0,5 mL del reactivo de tricloruro de aluminio 2 %. 2,5 mL se completará con alcohol de 70 % hasta volumen. Después de treinta minutos de incubación a T° ambiente, la absorbancia será medida a 415 nm. El contenido de flavonoides totales se calculó como equivalentes de rutina (mg de rutina/gMS) a partir de la curva de calibración de este compuesto.

La curva de calibración se trabajó con un intervalo de concentración de 8-32 µg/mL.

2.6. Determinación de la actividad antioxidante

2.6.1. Método de radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Se realizó la evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante siguiendo la metodología descrito por Sousa et al.⁴³, el seguimiento del consumo de radical DPPH por las muestras, mediante la disminución de la absorbancia de las soluciones a diferentes concentraciones. Estas mediciones se harán en UV-Vis; a una longitud de onda de 515 nm, se usará el ácido gálico como control positivo. Los resultados se pueden expresar como IC₅₀, % de captación, % de actividad antirradicalaria, o equivalentes a trolox o equivalentes a vitamina C (cuando es comparado con estándares)

2.6.1.1. Procedimiento

Se procedió a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en etanol 96° a una concentración de 40 mg/mL, se mantuvo en el refrigerador y protegido de la luz, se realizó diluciones de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1 µg/mL. La curva de calibración se construirá 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 etanol⁴³.

El extracto atomizado de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer y el control positivo (trolox) en etanol 96°, se diluyó 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 realizó a 515 nm a 1, 5 y 10 minutos, cada 10 minutos hasta 1 hora. Se utilizará una mezcla de etanol (2,7 mL) y 0,3 del extracto como solución de blanco.⁴³ A partir de la curva de calibración de la ecuación y los valores de tiempo absorbancia de 30 minutos, se determinó el porcentaje de DPPH restante (%DPPH_{REM}).

De acuerdo a la ecuación

$$\%DPPH_{REM} = \left[\frac{DPPH_{T=t}}{DPPH_{T=0}} \right] \times 100$$

Ecuación 1. Determinación del DPPH remanente

Donde:

DPPH_{T=t} Concentración DPPH en el medio de reacción.

DPPH_{T=0} Concentración inicial de DPPH

Los valores de absorbancia a todas las concentraciones ensayadas se convertirán en porcentaje de actividad antioxidante (%AA), que será determinada por la ecuación⁴³.

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

Ecuación 2. Determinación del porcentaje de Actividad Antioxidante

Donde:

Abs_{control}: absorbancia inicial de la solución metanólica de DPPH,

Abs_{muestra}: absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra.

La concentración requerida para el 50% de inhibición del radical libre DPPH (IC₅₀) será calculada mediante la ecuación de la gráfica de concentración del extracto y trolox vs % inhibición.

Posteriormente se determina la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC) con la ecuación

$$TEAC \left(\text{TROLOX} \frac{\text{mg}}{100\text{g planta}} \right) = \frac{IC_{50} \text{ Trolox}}{IC_{50} \text{ muestra}} \times 100$$

Ecuación 3. Determinación de la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC)

2.6.2. Método del Radical (ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS))

Para la solución madre de ABTS: Se preparó una solución madre de ABTS (7mM), para ello se pesó exactamente 0,09601 g de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) diammonium salt, 98%) y se disolvió en 25 ml de agua bidestilada^{18,37,38}.

Se preparó la solución de persulfato de potasio: Se preparó una solución de persulfato de potasio (2,45mM), para ello se pesó 0,0165 g de K₂S₂O₈ y se disolvió en 25mL de agua bidestilada^{5,45,46}.

Preparación del radical ABTS^{•+}

En un frasco ámbar, se colocó 3mL de la solución madre ABTS (7mM) y 3 mL de la solución de Persulfato de Potasio K₂S₂O₈ (2,45mM), se homogenizó y se cubrió con papel aluminio. La solución se incubó de 12 a 16 horas a temperatura ambiente (± 25°C) antes de su utilización.

La solución tiene un periodo de uso de 2 días en refrigeración. Una vez formado el radical ABTS^{•+} se diluyó con etanol 96° hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 (± 0,02) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción)^{5,45,47,48}.

2.6.2.1. Procedimiento

Se colocó 20 µl de la solución del extracto a concentraciones de 50 a 250 µg/mL en tubos de vidrio y se reaccionó con 980 µL del radical ABTS^{•+} se mide la densidad óptica de la mezcla de reacción al minuto 6 a 734 nm, se realizó los ensayos por triplicado.

Se construyó la curva de calibración con Trolox a concentraciones de 50 a 250 µg/mL, y se determinará el porcentaje de inhibición utilizando la siguiente ecuación⁴⁹:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{(A_{\text{inicial}}) - (A_{\text{final}})}{(A_{\text{inicial}})} \times 100$$

Ecuación 4. Determinación del porcentaje de inhibición de radicales libres con Trolox

Con los datos obtenidos se calculó la Concentración Inhibitoria 50 (IC₅₀), Posteriormente se determinó la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC) con la ecuación

$$TEAC \left(\text{TROLOX} \frac{\text{mg}}{100\text{g planta}} \right) = \frac{IC_{50} \text{ Trolox}}{IC_{50} \text{ muestra}} \times 100$$

Ecuación 5. Determinación de la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC)

2.6.3. Método poder reductor antioxidante Férrico (FRAP)

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 ion férrico (Fe³⁺) a ion ferroso (Fe²⁺); esta última forma un complejo azul (Fe²⁺/TPTZ), cuya absorbencia 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 fenoles⁵⁰.

Desarrollo del método

Solución de ácido clorhídrico HCl 40Mm. Se diluyó 535µL de HCl (37%) en 100mL de agua destilada.

Solución TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) 10mM. Se pesó 0,0312 g del reactivo TPTZ y se disolvió en un matraz de 10ml con HCl 40mM. Solución de FeCl₃.6H₂O 20mM. Se pesó 0,1352g de FeCl₃.6H₂O, se disolvió en 25mL de agua destilada. Tampón acetato 0,3mM; PH 3,6 para 250 mL. Se disolvió 0,00615g de acetato de sodio en 200 mL de agua destilada^{40,49}.

Ajustar el pH a 3,6 utilizando HCl 40mM y completar hasta los 250 mL con agua destilada.

2.6.3.1. Procedimiento

Se colocó 20 µL de la solución del extracto a concentraciones de 50 a 250 µg/mL en tubos de vidrio y se hacen reaccionar con 980ul de la solución de trabajo. Se medió la densidad óptica de la mezcla de reacción al minuto 30 a 593 nm, los ensayos se realizarán por triplicado. Se construyó la curva de calibración con Trolox a concentraciones de 50 a 250 µg/mL, y se determinará el porcentaje de inhibición utilizando la ecuación 4.

Con los datos obtenidos se calcula la Concentración Inhibitoria 50 (IC₅₀), Posteriormente se determina la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC) con la ecuación⁴⁹.

$$TEAC \left(\text{TROLOX} \frac{\text{mg}}{100\text{g planta}} \right) = \frac{IC_{50} \text{ Trolox}}{IC_{50} \text{ muestra}} \times 100$$

Ecuación 7. Determinación de la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC).

3. Análisis de datos

Los datos que se obtuvo de la evaluación de los estudios fueron procesados por Microsoft y en el Software OriginPro. Se expresó los resultados como promedio, la diferencia significativa existente entre los tratamientos fue evaluado del análisis de varianza (ANOVA one-way), seguidos de la prueba de t-student, con un nivel de significancia estadística de 0,05. Los promedios de la actividad antioxidante son reportados en gráficos y los valores de CI₅₀ son reportados en tablas.

Para identificar diferencias estadísticamente significativas de las concentraciones evaluadas se calculó en análisis de varianza, comparaciones múltiples de Duncan y t-Student de muestras independientes con nivel de confianza de 95%, mediante el programa de SPSS versión 19.0⁵².

III. RESULTADOS

Tabla 5. Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). "coca – coca" Ayacucho – 2018.

Metabolito secundario	Ensayos	Rest	Observaciones
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración naranja en la fase amilica
Fenoles y/o Taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración verde intensa
Triterpenos y/o Esteroides	Liebermann-Burchard	+++	Coloración verde con un halo rojo
Lactonas y/o cumarinas	Bajet	++	Coloración naranja oscuro
Cardiotónicos	Kedde	++	Precipitado naranja

Leyenda: Regular: (++) Intensa: (+++)

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer). “coca – coca” Ayacucho – 2018.

Parámetros	Ensayos	Resultados
Organoléptico	Color	Beige claro
	Olor	Suigéneris
	Sabor	Agrio
	Aspecto	Polvo fino
Solubilidad	Metanol	Soluble
	Cloroformo	Soluble
	Etanol	Soluble
	Agua	Soluble
pH	Agua	3,76
Humedad	Perdida por desecación	4,12%
Cenizas	Cenizas totales	1,24%

Figura 5. Contenido de fenoles totales y flavonoides en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca – coca” Ayacucho - 2018.

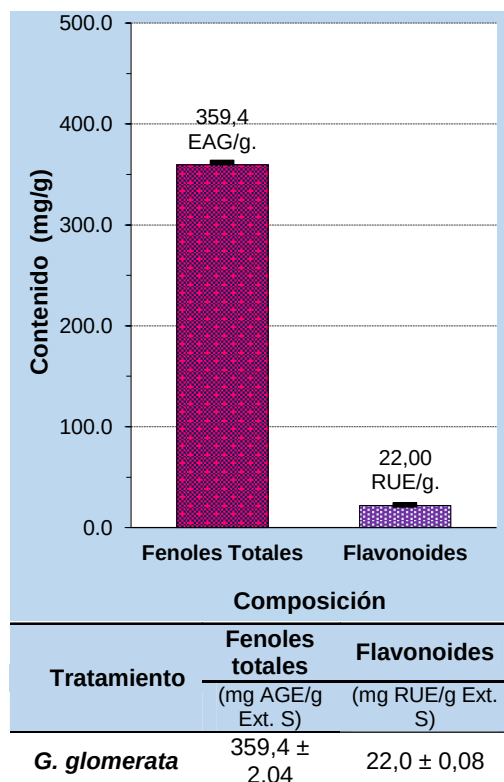


Figura 6. Porcentaje de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca – coca” Ayacucho - 2018.

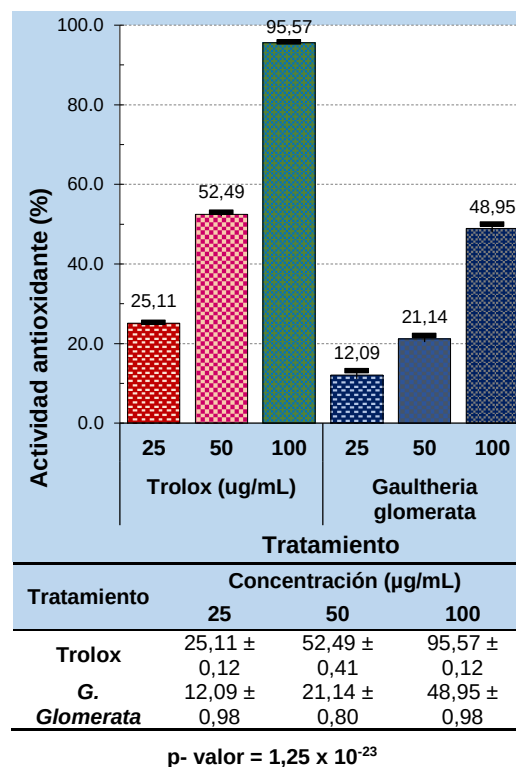


Figura 7. Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método ABTS del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca – coca” Ayacucho - 2018.

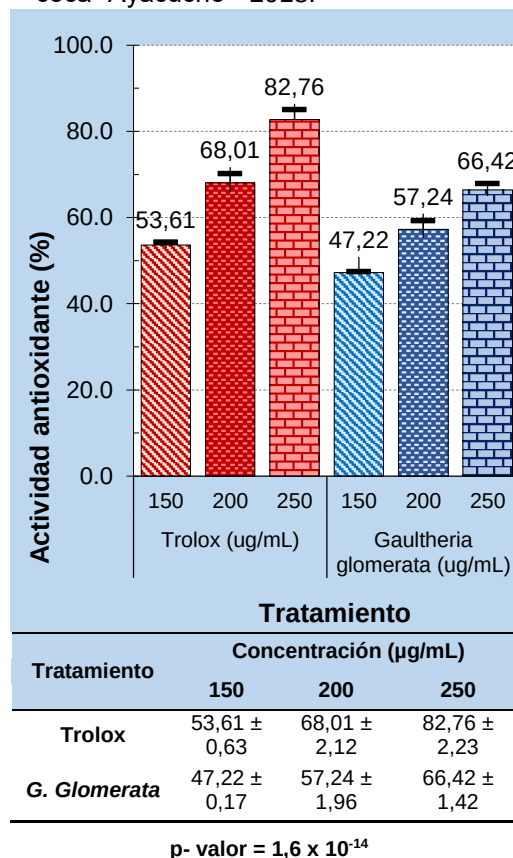
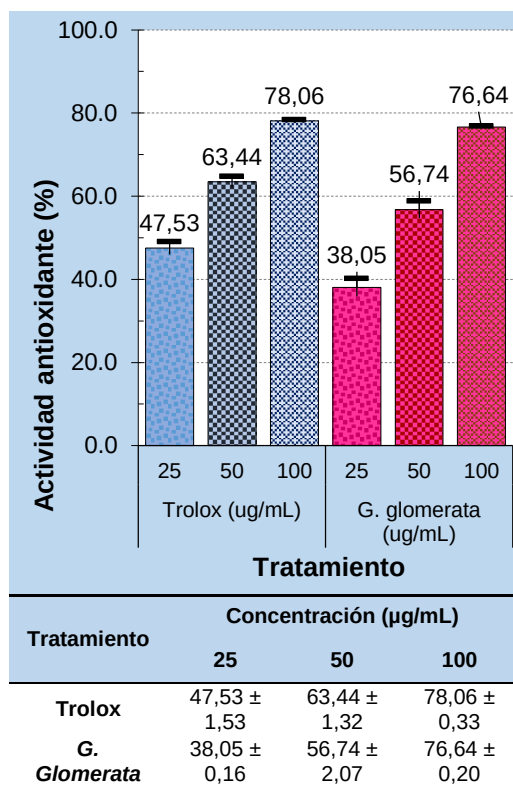


Figura 8. Porcentaje de actividad antioxidante mediante el método FRAP del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca – coca” Ayacucho - 2018



p- valor = 3.4×10^{-16}

Tabla 7. Concentración inhibitoria media (CI₅₀) del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* Cav. (Sleumer) “coca – coca” Ayacucho – 2018.

Muestra	DPPH CI ₅₀ (µg/mL)	ABTS CI ₅₀ (µg/mL)	FRAP CI ₅₀ (µg/mL)
<i>Gaultheria glomerata</i>	106,1 ± 0,72	169,3 ± 1,40	39,1 ± 2,18
Trolox	38,7 ± 0,04	144,7 ± 2,01	27,2 ± 1,04
p- valor	0,000	3,9 x 10 ⁻⁶	6,8 x 10 ⁻⁵

IV. DISCUSIÓN

Se ha demostrado que en el Perú, el comercio de hierbas es un recurso económico de mayor importancia, pero se ve amenazado por la disminución en los conocimientos tradicionales llevando a una valorización inapropiada de los remedios tradicionales, las investigaciones más consideradas son las de la concentración inhibitoria mínima, análisis de toxicidad,

ensayos de actividad bacteriana y análisis fitoquímicos, se han enfocado estudios para tratamientos herbales de enfermedades renales e infecciones urinarias, acné y malaria¹.

En la Tabla 5, Por medio del análisis fitoquímico se determinó cualitativamente en el extracto atomizado de las hojas *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. La presencia de distintos metabolitos secundarios, tales como los flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, triterpenos y/o esteroides, lactonas y/o cumarinas y cardiotónicos; así mismo resaltar los ensayos de cloruro férrico y shinoda, por los que se puede determinar la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos y flavonoides respectivamente, observándose una coloración naranja en la fase amílica para flavonoides y una coloración verde intensa para taninos pirocatecólicos. Las cuales le otorgan distintas propiedades terapéuticas para la salud, es por ello que muchas investigaciones se basan para otorgarle su poder antioxidante.

Por su lado Castañeda y Pazos¹³, en otra investigación al extracto hidroalcohólico del fruto de la *Gaultheria erecta*, reporta mayor presencia de compuestos fenólicos y/o taninos, de flavonoides y en menor cantidad a los azúcares reductores, cumarinas y aminoácidos, mostrando que su fruto de esta especie muestra un gran poder antioxidantes, libre de alcaloides, basándose en su resultado negativo y a bibliografías, en la cual clasifican a la familia de la ericaceae no se caracteriza por la presencia de alcaloides; por lo cual este resultado coincide con la quimio-taxonomía de la familia.

En la tabla 6; se determina las características de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. Demostrando una coloración beige claro, un olor siugeneresis, un sabor agrio, aspecto polvo fino, solubilidad en metanol, cloroformo, agua, con un pH de 3,76, humedad 4,12%. Esta propiedad es significativa puestos que manifiesta el cuidado que se tuvo durante el manipuleo, procesamiento y almacenamiento de la especie vegetal y ceniza 1,24 %.

En un estudio señala Palomino⁴², que se evalúan propiedades organolépticas, por

medio de la evaluación sensorial a través de la cual se debe hacer uso de uno o más sentidos, la cual servirá de forma más directa para la medición de la calidad del producto alimenticio.

Por lo cual muchas investigaciones coinciden que, en el estudio fitoquímico de la familia de las ericaceae, se puede observar tanto en los extractos de las hojas, flores y frutos la mayor presencia de fenoles totales y/o taninos y flavonoides, los cuales le otorgan poderes antioxidantes potentes con efectos anticancerígenos y antimutagénicos beneficiosos para la salud.

Garrido et al.⁵⁵, señala que la determinación de fenoles y flavonoides totales, se podría deber a la capacidad de los disolventes para extraer los compuestos desde el material vegetal, a la temperatura o al tiempo de extracción; Lo cual podría explicar también el alto porcentaje de rendimiento de estos extractos, demostrando que el disolvente utilizado en el proceso de extracción juega un rol importante, considerando la polaridad tanto del disolvente como la de los compuestos fenólicos.

En la figura 4, se observa los resultados de la cuantificación de fenoles totales y flavonoides, se usaron los métodos de espectrofotometría de Folin – Ciocalteu y cloruro de aluminio respectivamente. Para la cuantificación de fenoles totales se elaboró la curva de calibración del ácido gálico, con un coeficiente de correlación de 0,9997 (anexo 9) obteniéndose en miligramos de ácido gálico equivalentes (AGE) por gramo de extracto seco de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer., los cuales presentaron valores de fenoles totales $359,4 \pm 2,04$ mg AGE/g de extracto seco. Los flavonoides en miligramos de rutina equivalentes (RUE) por gramo de extracto seco, se obtuvieron valores de $22,0 \pm 0,08$ mg RUE/g de extracto seco. Se puede observar que el contenido de flavonoides es menor, basamos en que son los fenoles los que engloban a los flavonoides.

Según Carpio y Figueroa¹¹, En el análisis para la cuantificación de fenoles totales se observa la coloración azul debido a que el reactivo de Folin – Ciocalteu, reacciona con los compuestos polifenólicos en medio alcalino, teniendo como resultado un cambio de la coloración de amarillo a azul,

considerando que la intensidad depende del contenido de fenoles presentes. En el análisis de flavonoides por medio del tricloruro de aluminio se observa una coloración amarilla el cual se debe a que el catión de aluminio forma complejo estables con el flavonoide en etanol así evita la interferencia de otros compuestos fenólicos.

La finalidad de esta investigación fue de determinar la actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) sleumer, por medio de los compuestos cromógenos *in-vitro* con las especies radicalarias simétricas (DPPH, ABTS Y FRAP) considerando que estos métodos son los más usadas en los laboratorios del mundo, ya que determinan de manera general la capacidad antioxidante de las sustancias para donar hidrogeno o captar electrones.

Por lo que respecta a la determinación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, se trabajó con la curva de calibración del radical (anexo 15), se elaboró de acuerdo a la metodología descrita por Suosa et al.⁴³, trabajándose a distintas concentraciones de acuerdo al (anexo 13), la determinación de la actividad antioxidante del método ABTS, se realizó de acuerdo al (anexo 22) por otro lado la evaluación de la actividad antioxidante del método FRAP se realizó de acuerdo al (anexo 29).

De forma semejante se contrasto el porcentaje de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, ABTS y FRAP, se usó como estándar el trolox, en el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer y el estándar preparado a distintas concentraciones de acuerdo a los (anexo 14, anexo 22 y anexo 29) respectivamente.

Los resultados obtenidos según el método DPPH, se observa en la figura 5, el porcentaje de mayor actividad antioxidante a concentración de 100 µg/mL, siendo de $95,57 \pm 0,12$ µg/mL con respecto a la del control positivo Trolox y $48,95 \pm 0,98$ µg/mL para la muestra de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer es estadísticamente diferente $p= 1,25 \times 10^{-23}$; según el método ABTS, se observa en la figura 6, el porcentaje de mayor actividad antioxidante a concentración de 250 µg/mL, siendo de $82,76 \pm 2,23$ µg/mL con respecto a la del

control positivo Trolox y $66,42 \pm 1,42 \mu\text{g/mL}$ para la muestra de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer es estadísticamente diferente $p = 1,6 \times 10^{-14}$; según el método FRAP, se observa en la figura 7, el porcentaje de mayor actividad antioxidante a concentración de $100 \mu\text{g/mL}$, siendo de $78,06 \pm 0,33 \mu\text{g/mL}$ con respecto a la del control positivo Trolox y $76,64 \pm 0,20 \mu\text{g/mL}$ para la muestra de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer es estadísticamente diferente $p = 3,4 \times 10^{-16}$.

En contraste a otros estudios realizados por Salas¹⁰, determina la capacidad antioxidante por la metodología de la decoloración del radical DPPH y como estándar la curva de calibración de Trolox; el nivel de la capacidad antioxidante mayor fue del fruto Frambuesa silvestre con $25010.87 (\mu\text{g Eq}^* \text{ Trolox}/100 \text{ g fruto fresco})$, seguido por Machamacha $23328.90 (\mu\text{g Eq}^* \text{ Trolox}/100 \text{ g fruto fresco})$ luego, Alaybilí con $22902.90 (\mu\text{g Eq}^* \text{ Trolox}/100 \text{ g fruto fresco})$ y Condorpausan $21924.65 (\mu\text{g Eq}^* \text{ Trolox}/100 \text{ g fruto fresco})$.

En la tabla 7, se muestran los resultados de la concentración inhibitoria CI_{50} , según los métodos de DPPH, ABTS y FRAP para la *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. Donde a mayor concentración inhibitoria presenta una mayor capacidad antioxidante (CI_{50}) los resultados que se obtuvieron fueron de $106,1 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$, $169,3 \pm 1,40 \mu\text{g/mL}$ y de $39,1 \pm 2,18 \mu\text{g/mL}$, según el método DPPH, ABTS y FRAP respectivamente, siendo estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), siendo estos de $5,2 \times 10^{-10}$, $3,9 \times 10^{-6}$ y $6,8 \times 10^{-5}$ respectivamente según los métodos aplicados, con base a los (anexos 20, 27 y 34).

De los resultados obtenidos podemos afirmar que el extracto atomizado de las hojas de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer “coca – coca”. Contiene alto contenido de fenoles totales, bajo en flavonoides y con buena actividad antioxidante, por lo cual se pueden realizar otros estudios que puedan confirmar, evaluar y extracción del aceite de Wintergreen el cual contendría como componente principal al salicilato de metilo el cual servirá para posteriores estudios que involucren el análisis de las propiedades medicinales, nutraceuticas y la elaboración de distintas formulaciones magistrales.

V. BIBLIOGRAFÍA

1. Elisabetski E, Angulo. Plantas medicinales de los andes y la amazonia - La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú [Internet]. 2015 [citado 7 de abril de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/l02c>
2. Cachay E. Efecto del tiempo de cocción por hervido sobre capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales en *Arracacia xanthorrhiza* (arracacha) con y sin cáscara [Internet] [Tesis]. [Lima- Perú]: UNMSM; 2016 [citado 7 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/1vha>
3. Villanueva E. Contenido de betalainas y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *chenopodium quinoa* Willd. «Quinoa» [Internet] [Tesis]. [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2015 [citado 9 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/9gjh>
4. Gallego M. Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles [Internet]. [Barcelona-España]: Universidad Politecnica de Catalunya; 2016 [citado 8 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/i0y6>
5. Carvajal M. Evaluación de la actividad antioxidante de la hojas y frutos de la feijoa (*Acca sellowiana*) [Internet] [Tesis]. [Riobamba - Ecuador]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015 [citado 20 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/p81r6>
6. Montes D. Contenido fenólico y actividad antioxidante de extractos metanólicos obtenidos de las hojas y los frutos de *Pittosporum pentandrum*. [Internet] [Tesis]. [Santa Clara]: Universidad Central «Marta Abreu» de las Villas; 2014 [citado 9 de junio de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/rfpe>
7. Sotelo C. L, Alvis B. A, Arrázola P. G. Evaluación de epicatequina, teobromina y cafeína en cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* L.),

- determinación de su capacidad antioxidante. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 12 de agosto de 2015;9(1):124.
8. Reyna C. Evaluación del potencial antioxidante de Joyapa (*macleandria rupestris*), y aplicación en el procesamiento de alimentos [Internet]. [Ecuador]: Universidad del Azuay; 2012 [citado 9 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/08nc>
 9. Escalona JC. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de *Tamarindus indica* L. [Internet] [Tesis]. [Santiago de Cuba]: Universidad de Oriente; 2011 [citado 9 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/zm64>
 10. Salas T. Capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de los frutos silvestres *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer (macha macha), *Monnina vargassi* Ferreyra (condorpausan), *Vaccinium floribundum* Kunth (alaybili) y *Rubus roseus* Poir (franbuesa silvestre) [Internet] [Tesis]. [Apurímac - Perú]: Universidad Nacional José María Arguedas; 2017 [citado 20 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/4fu>
 11. Carpio R, Figueroa 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]. [Arequipa - Perú]: Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa; 2017 [citado 27 de enero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/5v1o>
 12. Huaccho C. "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 26 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://n9.cl/6wd5>
 13. Castañeda R, Pazos N. Estudio fitoquímico y evaluación de la capacidad antioxidante in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de *Gaultheria Erecta* [Internet] [Tesis]. [Trujillo- Perú]: Universidad Nacional de Trujillo; 2015 [citado 15 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/u8vy>
 14. Sotacuro R. Caracterización fitoquímico y concentración de antocianinas en el fruto de lacca lacca (*Gaultheria Glomerata* (Cav.) Sleumer) [Internet] [Tesis]. [Huancavelica - Perú]: Universidad Nacional de Huancavelica; 2013 [citado 9 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/e04y>
 15. Prado I. Efecto cicatrizante de los compuestos fenólicos aislados de las flores de *Agave americana* «cabuya». Ayacucho 2013. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga [Internet]. 2015 [citado 9 de mayo de 2019]; Disponible en: <https://n9.cl/9q9c>
 16. Yangali N. Actividad antioxidante de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "Kiwicha". Ayacucho-2014. [Internet] [Tesis]. [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015 [citado 10 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/clys>
 17. Almeyda WA. Fenoles totales y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay", Ayacucho 2017. [Internet]. [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2017 [citado 10 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/271>
 18. Huayanay F. Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tanacetum Parthenium* L. Sch. Bip. «Santa María». [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015.
 19. aceites-esenciales.org. Aceite esencial de *Gaultheria*: Todas sus Increíbles Propiedades [Internet]. Aceites esenciales. 2019 [citado 25 de junio de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/xuvl>

20. NYBG Press. WFO Monographs Details - The William & Lynda Steere Herbarium [Internet]. [Citado 18 de septiembre de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/vy7t>
21. Romero CM, Ramos DL. Composición florística y estado de conservación de los bosques de *Kageneckia lanceolata* Ruiz & Pav. Y *Escallonia myrtilloides* L.f. En la reserva paisajística Nor [Internet]. 2009 [citado 25 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/z5r8>
22. García A. Evaluación *in vitro/in vivo* de propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (*Solanum phureja*) [Internet] [Tesis]. [Bogotá-Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2011 [citado 25 de abril de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/n2cp>
23. Gimeno E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. Offarm. 1 de junio de 2004;23(6):80-4.
24. Peñarrieta JM, Tejeda L, Mollinedo P, Vila JL, Bravo JA. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos [Internet]. Compuestos fenólicos. 2014. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/4263/426339682006.pdf>
25. Martínez S, González J, Culebras JM, Tuñón J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp. 2002;8.
26. López T. Flavonoides [Internet]. Flavonoides. 2013 [citado 13 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-flavonoides-13028951>
27. Ross JA, Kasum CM. Dietario Flavonoides: biodisponibilidad, efectos metabólicos y seguridad. Annual Review of Nutrition. 2002;22(1):19-34.
28. Félix. Radicales libres y antioxidantes [Internet]. 2006 [citado 14 de agosto de 2018]. Disponible en: http://fenix.cichcu.unam.mx/libroe_2006/0988003/08_c04.pdf
29. Rodriguez, Portillo. Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio Chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible [Internet] [bachelor]. Universidad de El Salvador; 2013 [citado 26 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/5311/>
30. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. Proc Nutr Soc. Noviembre de 1999;58(4):1025-33.
31. Coronado DRS. "Evaluación de la actividad de extractos orgánicos de semillas de *Hliocarpus terebinthinaceus*" [Internet] [Tesis]. [Oaxaca]: Universidad Tecnológica de la Mixteca; 2007 [citado 4 de abril de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/hjg9>
32. Bohorquez R. Determinación de la actividad antioxidante del extracto de hojas de *Diplostephium phyllicoides* (Kunth) Wedd [Internet] [Tesis]. [Bogotá-Colombia]: Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A.; 2016 [citado 20 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/8i0r>
33. Huang D, Ou B, Prior RL. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays [Internet]. Vol. 53. 2005 [citado 12 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
34. Tovar J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera [Internet]. Universidad Tecnológica de Pereira; 2013 [citado 4 de marzo de 2019]. book. Disponible en: <https://n9.cl/jdgq>
35. Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales - WHO - OMS - [Internet]. [Citado 26 de enero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/1g8r>
36. Sharapin N, Machado L, Souza E, Rocha E, Valverde E, López J. Fundamentos de Tecnología de

- Productos Fitoterapeúticos. 2000 [Internet]. [Citado 15 de octubre de 2019]; Disponible en: <https://n9.cl/k7v9>
37. Pérez F, León G, Rodríguez F, Vásquez L. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. *Pueblo continente*. 30 de septiembre de 2016;22(2):421-426-426.
38. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de La Habana: Editorial Félix Varela. 2000.
39. Quispe V. Formulación de una crema elaborada a base del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria rupestris* Molau «romero». [Internet] [Tesis]. [Ayacucho - Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015 [citado 6 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/tsev3>
40. Gómez 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 27 de enero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/vsdu>
41. 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 27 de enero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/4ut>
42. Palomino L. Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos de Antioquia [Internet] [Tesis]. [Medellín - Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2009 [citado 27 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://n9.cl/bn9z>
43. Sousa CM de M, Silva HR e, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, Costa CLS da, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais [Internet]. Vol. 30. Universidade Federal do Piauí: Quim. Nova; 2007 [citado 27 de abril de 2019]. 351-355 p. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000200021&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt
44. Brand willians. trolox. Información tecnológica. 2014;25(3):11-6.
45. Agudo L. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en alimentos. [Internet] [Tesis]. Rev. Electronica Autodidacta; 2010 [citado 27 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/c6mvs>
46. Márquez C, Otero C, Rojano B, Osorio J. Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* s.) en poscosecha. 1. 1 de julio de 2014;173-84.
47. Aldana Pérez CD, Guayasamín Pérez LE. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de *Ficus citrifolia* y caracterización química de los polifenoles. [Internet] [Tesis]. [Ecuador]: Universidad Politécnica Salesiana; 2014 [citado 27 de junio de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/nusf>
48. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*. Diciembre de 2005;25(4):726-32.
49. Rivas C, Oranday M, Verde M. Investigación en plantas de importancia médica [Internet]. 1.ª ed. OmniaScience; 2016 [citado 27 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/s58q>
50. Ludeña M. Evaluación de antioxidantes provenientes de subproductos en productos procesados (bebidas) [Internet] [Tesis]. [Loja - Ecuador]: Universidad Técnica Particular de Loja; 2015

[citado 27 de abril de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/5k0t>

51. Gómez MM. Introducción a la metodología de la investigación científica [Internet]. 1.^a ed. Argentina: Editorial Brujas; 2006 [citado 20 de enero de 2019]. 194 p. Disponible en: <https://n9.cl/etks>
52. Hernández R, Baptista P, Fernández C. Metodología de la investigación [Internet]. México: McGraw-Hill Interamericana; 2014 [citado 10 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/2i4>
53. Valenzuela E, Gracia C. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antimicrobiana de algunas plantas superiores colombianas. Rev Colomb Cienc Quím Farm,. 2009;23(1):42-8.
54. Plazas G. EA. Análisis fitoquímicos y de actividad biológica de seis especies nativas de las áreas rurales del distrito capital. 2012;18.
55. Garrido G, Ortiz M, Pozo P. Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. :9.
56. Orjuela A. Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de hojas de *Chromolaena perglabra* (B.L. Robinson) R.M. King y H. Robinson. [Internet] [Tesis]. [Bogotá-Colombia]: Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A.; 2015 [citado 16 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://n9.cl/q41b>