Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA

Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

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

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

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

CONSTANCIA

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

Compuestos Bioactivos y Actividad Antioxidante del Extracto Etanólico de las Partes Aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma"

Presentado por:

BENDEZU LOAYZA, ESTHER VERONICA

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA.** El resultado obtenido es **8%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

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

Ica, 25 de Marzo de 2024

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

POJB/osad

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Compuestos Bioactivos y Actividad Antioxidante del Extracto Etanólico de las Partes Aéreas de *mutisia acuminata* “chinchilcoma”

Línea de Investigación:
Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

AUTOR

BACH. BENDEZU LOAYZA, ESTHER VERONICA

ICA-PERU

2023

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento de mi formación profesional.

A mis padres por su amor y apoyo incondicional, siendo los pilares fundamentales de mi vida, quienes son mi motivo de admiración y motivación por el esfuerzo y la perseverancia que los caracteriza.

A mis hermanos quienes han sido mi apoyo y han creído en mí.

AGRADECIMIENTO

- A mi asesor, el Dr. Jorge A. Garcia Ceccarelli, por las enseñanzas, consejos y apoyo durante mi etapa universitaria en especial por la motivación y guiarme durante toda la realización de mi trabajo de investigación, así mismo a todos los docentes que me brindaron su apoyo para la culminación de este trabajo.

Índice

Índice de tablas v

Índice de figuras vi

Resumen vii

Abstract viii

I. Introducción 9

II. Estrategia metodológica 25

2.1.1 Tipo de Investigación 25

2.1.2 Nivel de Investigación 25

2.1.3. Diseño de Investigación 25

2.2 Lugar de Investigación 25

2.3 Materiales de Trabajo 25

2.4. Hipótesis y variables 28

2.4.1. Hipótesis 28

2.4.2. Variables 29

2.5. Población, muestra y muestreo 30

2.6. Métodos, Técnicas y procedimiento de recolección de muestras 30

2.7. Técnicas y procesamiento de información 38

2.8. Técnicas de procesamiento, análisis e interpretación 39

2.9. Aspectos éticos 39

III. Resultados 40

IV. Discusión 48

V. Conclusiones 51

VI. Recomendaciones 52

VII. Referencias bibliográficas 53

VIII. Anexos 56

Índice de tablas

Tabla 1. Tipo de antioxidantes 20

Tabla 2. Función de antioxidantes no enzimáticos 21

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos que caracterizan el extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" 40

Tabla 4. Determinación de Metabolitos Secundarios en el extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" 41

Tabla 5. Valores de absorbancia de las diluciones patrones de trolox por el método DPPH 42

Tabla 6. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" 43

Tabla 7. Lectura de absorbancias de las diluciones de patrón de trolox por el método FRAP 44

Tabla 8. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" 45

Tabla 9. Lectura de absorbancias de las diluciones del patrón trolox por el método ABTS 46

Tabla 10. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" 47

Índice de figuras

Figura 1. *mutisia acuminata* “chinchilcoma” en estado natural 17

Figura 2. Flores y hojas de la especie *mutisia acuminata* “chinchilcoma” 18

Figura 3. Mapa de la provincia de Lucanas donde se encuentra el distrito de Puquio lugar de muestreo de la especie 19

Figura 4. Estructura representativa de los antioxidantes 22

Figura 5. Fuentes de formación de Radicales libres 23

Figura 6. Representación esquemática del estrés oxidativo 24

Figura 7. Correlación entre la concentración de trolox y el porcentaje de inhibición del radical DPPH 42

Figura 8. Correlación entre la concentración del extracto extracto etanólico de la especie mutisia acuminata y el porcentaje de inhibición 43

Figura 9. Curva de calibración de trolox para la determinación de la actividad antioxidante por método F RAP 44

Figura 10. Correlación entre concentración del extracto etanólico de la especie *mutisia acuminata* y TEAC (mM) 45

Figura 11. Curva de cuantificación de trolox para la determinación de la actividada antioxidanrte 46

Figura 12. Correlación entre la concentración del extracto extracto etanólico de la especie *mutisia acuminata* y capacidad antioxidante equivalente detrolox como minimoles 47

Figura 13. Fraccionamiento de las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* 56

Figura 14. Medición de solvente extractante para la maceración de las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* 56

Figura 15. Adicionando alcohol a las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* 57

Figura 16. Macerando la especie de las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* 57

Figura 17. Extracto etanólico seco de *mutisia acuminata* 58

Figura 18. Determinación de pH de extracto 58

Figura 19. Preparación de diluciones de extracto 59

Figura 20. Determinación de absorbancias. 59

Figura 21. Constancia de la certificación botánica de la especie 60

RESUMEN

El uso de plantas medicinales es común o se realiza desde tiempos ancestrales; hoy en día, la búsqueda de plantas o productos medicinales con actividad antioxidante tiene una mayor demanda considerando que neutralizan el estrés oxidativo. El Perú es un territorio rico en cuanto a la diversidad de la flora nativa que presenta y en especial la zona altoandina y selva tropical, donde muchas de las especies utilizadas por la medicina tradicional, no han sido estudiadas. El presente trabajo se ejecutó con la propósito de demostrar la actividad antioxidante un extracto etanólico obtenido de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" especie propia de la zona altoandina de Sudamérica. La muestra fue recogida en el distrito de Puquio, en la provincia de Lucanas, departamento de Ayacucho. El extracto fue obtenido por maceración de las partes aéreas, utilizando etanol de 96º como solvente de extracción. Para la determinación de los metabolitos secundarios se efectuó un tamizaje fotoquímico y la identificación se realizó por reacciones de coloración y/o precipitación. La actividad antioxidante se comprobó por los métodos DPPH, FRAP y ABTS. Se determinó la presencia de compuestos bioactivos de naturaleza flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos y taninos; en cuanto a los resultados de la actividad antioxidante se encontró que en el método del radical DPPH se obtuvo un IC50 equivalente a 2,47 mg de extracto; en el método de radical libre ABTS se hallado un valor 8,91 es equivalente a 1mM de trolox y en el método de reducción del ion férrico (FRAP) se obtuvo un valor 6,78 mg equivalente a 1 mM de trolox. El estudio concluye que el extracto etanólico de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" presenta una considerable actividad antioxidante, la cual puede estar directamente relacionada con la presencia de los compuestos bioactivos determinados.

Palabras clave: *mutisia acuminata*, antioxidante, DPPH, FRAP, ABTS.

ABSTRACT

The use of medicinal plants is from ancient times; Today, the search for medicinal plants or products with antioxidant activity is in greater demand considering that they neutralize oxidative stress. Peru is a rich territory in terms of the diversity of the native flora that it presents and especially the high Andean zone and tropical jungle, where many of the species are used for traditional medicine, have not been studied. The present work was carried out with the purpose of demonstrating the antioxidant activity of the ethanolic extract of the aerial parts of mutisia acuminata "chinchilcoma" a species typical of the high Andean zone of South America. The sample was collected in the distrit of Puquio, province of Lucana, in the department of Ayacucho. The extract was obtained by maceration of the aerial parts, using 96º ethanol as extractant solvent. For the determination of the secondary metabolites, a phytochemical screening was carried out and the identification was carried out by color and/or precipitation reactions. The antioxidant activity was determined by the DPPH, FRAC and ABTS methods. The presence of bioactive compounds of nature flavonoids, alkaloids, phenolic compounds and tannins was determined; Regarding the results of the antioxidant activity, it was found that in the DPPH radical method an IC50 equivalent to 2.47 mg of extract was obtained; in the ABTS free radical method, a value of 8.91 was found to be equivalent to 1mM of trolox and in the ferric ion reduction method (FRAP) a value of 6.78mg was obtained, equivalent to 1mM of trolox. The study conclusion that the ethanolic extract of the aerial parts of *mutisia acuminata* "chinchilcoma" presents considerable antioxidant activity, which may be directly related to the presence of certain bioactive compounds.

Keywords: *mutisia acuminata*, antioxidant, DPPH, FRAC, ABTS

I. INTRODUCCION

Las plantas medicinales y alimenticias fueron una primera alternativa como fármacos para los seres humanos, las cuales se convirtieron en los primeros remedios para la mayoría de los problemas de la salud. El Perú es uno de los países que cuenta con una importante diversidad de flora medicinal la misma que tiene usos ancestrales. En los últimos años el uso de las plantas medicinales viene siendo una alternativa en algunas terapias, precisamente ese es uno de los motivos por el cual se realiza la presente investigación "Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de un extracto etanólico obtenido de las partes aéreas de *mutisia acuminata* (chinchilcoma)".

La gran variedad de compuestos que poseen estas plantas medicinales incluida *mutisia acuminata* "chinchilcoma" hacen que se distingan sus diferentes funciones farmacológicas conllevando a que tengan una gran importancia en la medicina, una de las muchas funciones es la actividad antioxidante.

Los antioxidantes se consideran un grupo de sustancias que, en concentraciones bajas con relación al sustrato oxidable, previenen o retrasan considerablemente la oxidación de este. Casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas se pueden considerar como sustrato oxidable que se hallan en las células vivas, Tales como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN.[1]

Últimamente, la importancia de los efectos que acusan de los radicales libres y su relación con el envejecimiento celular están un constante incremento. Los radicales libres son compuestos químicos que se constituyen en los vectores causales del estrés oxidativo, el cual está directamente relacionado con el envejecimiento celular y algunos procesos fisiopatológicos degenerativos que se presentan enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, cataratas y determinados tipos de cáncer.

La acción de los antioxidantes consiste en imposibilitar que otras sustancias se reaccionen con oxígeno, reaccionan o interactúan comúnmente más rápido con los radicales libres producios

por este y sus especies reactivas, que, con otras moléculas que estuvieran presente, en un microambiente explicito; el antioxidante sacrifica de su propia naturaleza estructural para evitar cambios en moléculas del tipo: proteínas, lípidos, ADN, etc, funcionalmente vitales.[1]

En base a todo lo expuesto se realizó la presente investigación enfocada en superar la fase empírica de su utilización y demostrar el poder antioxidante de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma"

1.1 Descripción de la realidad problemática.

Existe una gran demanda de consumo de alimentos funcionales que además de aportar nutrientes ayudan en la prevención de diversas enfermedades degenerativas como cáncer, diabetes, obesidad, hipertensión arterial.[3]

Estas enfermedades degenerativas por lo general son originadas por varios factores tales como el estrés, estilo de vida, exposición a la radiación, la dieta y algunos medicamentos. Estos factores pueden originar la generación de radicales libres debido a las reacciones bioquímicas de oxido-reducción que ocurren en el proceso del metabolismo celular.[4]

Se entiende como radicales libres a aquellas moléculas cuya estructura atómica presenta un electrón impar o desapareado en el orbital externo, proporcionándole una configuración espacial que produce una alta inestabilidad.[5]

El incremento de este tipo de enfermedades crónicas-degenerativas es un gran problema para la población, por ello siempre se está en búsqueda de distintas alternativas; las cuales implica el estudio de plantas y alimentos que contengan sustancias capaces de inhibir la degradación oxidativa.

Los antioxidantes tienen la capacidad de detener esta degradación oxidativa, los más utilizados son los antioxidantes sintéticos, sin embargo, estudios han demostrado que presentan efectos nocivos para la salud. Es por ello, el incremento en el interés de los antioxidantes naturales.

1.2 Antecedentes de la Investigación

- Yarlequé M, Bonilla P, Rueda L. (2002), en su artículo lograron aislar dos flavonoides del extracto de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" y probaron su efecto anticoagulante sobre el plasma humano. Realizó dos fases cromatográficas. – Primero cromatografía rápida del extracto alcohólico teniendo como fase estacionaria silicagel y fase móvil solventes de polaridad creciente: n-hexano, cloroformo, metanol y agua. – Segundo, una cromatografía en capa fina a la fase acuosa, empleando placas de celulosa y como fase móvil el sistema de solventes: ácido acético, butanol y agua (fase orgánica 1:4: 5). - Los compuestos aislados fueron leídos en un espectrofotómetro Génesis II, dentro del rango λ = 200-400 nm, para su posterior comparación con los espectros UV obtenidos por Mabry. - La recalcificación se valoró en base al tiempo en plasma humano citratado. Los compuestos obtenidos por cromatografía rápida de la fase acuosa presentaron efecto anticoagulante. Se aislaron 7 flavonoides mediante la cromatografía en capa delgada. Los que exhibieron efecto anticoagulante fueron: 5, 3' – dihidroxi – 4 – O – metil – 7 – O – Rh – glucosil flavanona. y 5, 3', 4'– trihidroxi –7–gli – flavanona. Concluyendo que el mecanismo anticoagulante aún no es dilucidado; sin embargo, pareciera que los grupos hidroxil concurrentes en los flavonoides juegan un rol preponderante en la inhibición de las enzimas coagulantes.[6]

- Juérez y Mendiondo. 2003, en su artículo científico mostraron que el patrón cromatográfico de la especie *mutisia acuminata* var. paucijuga presentaba flavonoides como la quercetina, quercetina-3-glucorónido, isorhamnetin-3-glucorónido y diglicosido de pelargonidina. La especie vegetal fue recolectada en Salta, Dpto. Rosario de Lerma, a 2000 m de altura en el país de Argentina. Las hojas se maceraron con triclorometano ($ClCH_3$) para eliminar clorofilas. El filtrado se extrajo sucesivamente con MeOH al 80%, MeOH al 50% y MeOH. Los residuos se evaporan bajo presión reducida y se volvió a

disolver en MeOH al 80%. Este último se utilizó para preparar cromatografía en papel dimensional que se desarrollaron por el método descendente de Whatman. Los flavonoides fueron identificados por cromatografía con muestras auténticas, hidrolisis acida y datos espectrales y concuerdan con los aislados en otras especies de mutisia , con excepción del diglicosido de pelargonidina pergolina.[7]

- Gomero, B. 2013, efectuó un estudio del tipo experimental con el objetivo de evaluar la posible actividad tóxica del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *mutisia acuminata* R&P, empleado el método de las clases para la toxicidad aguda (CTA), en la cual se emplea la dosis límite de 2000 mg/kg de peso corporal. utilizando ratones *Mus musculus* albinos cepa Balb/c, de un peso entre 24 - 37 g. Los resultados mostraron ciertas variaciones microscópicas en los diversos órganos ensayados, por lo que se finiquitó que la especie vegetal *mutisia acuminata* es relativamente toxica. Concluyendo que la especie *mutisia acuminata* presenta toxicidad aguda a la concentración de 2000 mg/kg.[8]

- Omonte, A. 2013, mostró un trabajo de investigación con el propósito de determinar la actividad antioxidante de una crema hecha a partir de los compuestos fenólicos aislados de un extracto de las flores de *mutisia acuminata* R&P. "chinchilcoma". La muestra fue recolectada en el poblado de Chuschi, Cangallo, departamento de Ayacucho. A partir del extracto etanólico se adquirieron diversos compuestos fenólicos, mediante el empleo de solventes de diferente polaridad, la identificación cualitativa se realizó mediante ensayos cromatográficas y espectrales, los resultados indican presencia de isoflavonas. Se determinó la actividad antioxidante espectrofotométricamente empleado el método del radical DPPH (1,1 difeniI-2 picrilhidrazil), las cremas a las concentraciones de 0,5; 1 y 2% fueron elaboradas a base del extracto etanolico. Las cremas de concentración 0,5 y 1,0 % presentaron un color crema claro y al 2% un color mostaza claro, todas presentaron emulsión tipo ONV, un aspecto homogéneo, y pH neutro. La extensibilidad fue mayor extensibilidad para la de concentración 1% (91.1 cm2), orden de la de 2% (90,3 cm2) y

por último la de 5% (86,1 cm2) un valor mayor al de la crema base (84,3 cm2), la crema preparada 2.0% exhibio un porcentaje alto de inhibición de radicales libres (99,70%), en comparación a las cremas de 1,0% y 5% que mostraron valores de 98.6% y 96.1% respectivamente. Siendo, los porcentajes de inhibición que presentaron las cremas estadísticamente similares (p>0,05). Concluyendo que las cremas elaboradas a partir del extracto etanolico de las flores de *mutisia acuminata* presentaron características organolépticas imponderables y que a todas las concentraciones las cremas presentaron actividad antioxidante.[9]

- García, F. 2014, determino la toxicidad aguda de un extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas frescas de *Mutisia acuminata*, en cepa Holtzman de ratas albinas. La prueba de letalidad se dispuso en 20 ratas, por vía intragástrica (5000 mg/kg, DL50) y, en dosis única, diversos volúmenes del extracto fueron inyectados según su peso corporal. Agua destilada se administró a cuatro ratas como blanco de referencia. Los animales perseveraron en observación por 14 días, al final de los cuales no se apreció signos de toxicidad, ni variación alguna de la curva de crecimiento o muerte de animal alguno. Al día 15 se realizó el sacrificio, extrayendo los órganos encefálicos para ejecución de los análisis anatomopatológicos en el tejido de cerebros y cerebelos. No se encontraron lesiones macroscópicas, microscópicamente se hallaron edemas leves, moderados y severos; en una rata hembra congestión leve y fuerte una rata macho. El análisis fitoquímico revelo la presencia de ocho metabolitos. Conclusión, el extracto hidroalcohólico de la especie valorada a la dosis de 5000 mg/kg mostró no ser tóxica.[10]

- Chávez, F. 2017, evaluó el efecto gástricoprotector del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *mutisia acuminata,* en su estudio sobre Modelos de investigación experimentales en especies medicinales. A ratas de la cepa Holtzman de peso entre 250 - 3 00g, de 8 meses a 1 año de vida se les indujo úlcera gástrica con alcohol. Al grupo control se le administró 1mL/Kg de peso corporal de agua destilada, al grupo patrón 150

mg/Kg de ranitidina y a grupos experimentales 200, 400 y 600 mg/kg de extracto etanolico. Se realizó un corte anatomopatológico del estómago de ratas. Se corroboraron los resultados mediante los análisis macroscópicos y microscópicos. El efecto gastroprotector fue evaluado con la escala de Marhuenda modificada. Se demostró la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *mutisia acuminata* a la dosis de 400 y 600 mg/kg, respaldada con los cortes anatomopatológicos seriados del tubo digestivo de las ratas investigadas. [11]

- Inocente, T. 2017, confirmó el efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *mutisia acuminata* en lesiones gástricas inducidas por naproxeno sódico, el extracto fue obtenido mediante la maceración hidroalcohólica de las hojas frescas de la especie, al extracto seco se le realizó una marcha fitoquímica, ensayo de solubilidad y la actividad antiulcerosa mediante de la técnica de Lee, 1971. Se determinó en las fracciones de la marcha, la presencia de los metabolitos secundarios como: flavonoides y alcaloides. El tratamiento más eficaz en la actividad gastroprotectora, fue a las dosis de 400 y 600 mg/kg de peso corporal, presentando un 68% y 82 % de inhibición de ulcera gástrica en comparación con el grupo patrón tratado con omeprazol y Ranitidina que presento un 64% de inhibición; los resultados se corroboraron con análisis macroscópicos (escala de Marhuenda), demostrando el efecto gastroprotector a las dosis de 400 y 600 mg/kg del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *Mutisia acuminata*[12]

- Roman y Zedano. 2019, determinaron el efecto antiulceroso de un extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *mutisia acuminata* en dosis de 200mg, 400mg y 600mg/kg por vía oral en Rattus norvergicus Holtzman. Se indujo la úlcera gástrica utilizando etanol 96°. Se emplearon 24 Rattus norvergicus con un peso entre 200 - 250 g. Se empleo las hojas de la especie *Mutisia acuminata* las cuales fueron trituradas y macerada en alcohol de 96° por 7 días para obtener el extracto alcohólico. La distribución de las ratas fue de forma aleatoria, se establecieron los siguientes tratamientos: suero

fisiológico (control negativo), Omeprazol 20mg/kg (Control positivo) y los grupos experimentales de los extractos de *mutisia acuminata* a 200mg/kg, 400mg/kg y 600mg/kg. El efecto antiulceroso se estableció mediante de la escala de Marhuenda y el análisis estadístico de los resultados fue realizado mediante el software SPSS versión 21 de la empresa IBM. En el análisis fitoquímico encontró los metabolitos secundarios: compuestos fenólicos. flavonoides, alcaloides, y taninos. El extracto hidroalcohólico a dosis de 600mg/kg, alcanzó un 85% de reducción de la ulcera gástrica llegando a la conclusión que el extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *mutisia acuminata* exhibió efecto antiulceroso a 600 mg/kg.[13]

1.3 Justificación e Importancia.

Como se mencionó anteriormente, que pese a la gran diversidad de flora empleada en la medicinal folclórica o tradicional con la que cuenta el país, muchas de ellas no han sido estudiadas o algunas de ellas son pocos estudiadas, este es el caso de la especie objeto de estudio del presente trabajo; pues en cuanto a estudios fitoquímicos y estudios de las propiedades atribuidas por la etnobotánica para esta especie encontrados en referencias bibliográficas fueron muy escasos, sin embargó en cuanto a la familia y género es ampliamente estudiada. Estudios de esta especie originaria de la zona del distrito de Puquio, de la provincia de Lucanas, del departamento de Ayacucho; donde se le atribuyen ciertas propiedades medicinales, no es de conocimiento para sus pobladores y por consecuente para la población peruana, lo que justifica la realización de este estudio como unos de los primeros pasos que nos permitan validar con bases científicas las propiedades atribuidas. La investigación sobre los compuestos bioactivos y actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" permitirá identificar su propiedad terapéutica como antioxidante y la presencia de los metabolitos secundarios relacionados con dicha actividad, estas pueden variar en el tiempo y espacio por los diferentes factores

ecológicos, climatológicos y agronómicos; consideramos que con la realización del presente estudio, podemos contribuir desde una base científica.

1.4 Objetivos de la Investigación.

a) Objetivo General:

- Determinar los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma"

b) Objetivos Específicos:

- Obtener un extracto etanólico y su caracterización fisicoquímica.
- Establecer los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" por medio de un análisis fitoquímico.
- Comprobar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" mediante el método 2,2 –Difeni-1-picrilhidrazil (DPPH)
- Comprobar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" mediante el método de reducción de ion férrico (FRAP).
- Comprobar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" mediante el método del radical ABTS.

1.5 **Marco Teórico**

1.5.1 ***mutisia acuminata* "chinchilcoma"**

Descripción de *mutisia acuminata* "chinchilcoma":

Mutisia acuminata, es un especie arbustiva de tipo ramoso; chaparro, algunas veces semitrepador, de una altura de hasta 1,40 m; ramas ligeramente estriadas, flexuosas, con presencia de entrenudos de 1-4 cm. Hojas pinnaticompuestas, alternas, cilíndricas de 5,5 - 6 x 8 – 12 cm, de coloración entre pardo a rojizo. Las Flores son de dos labios tubulares hermafroditas diformas; ovarios ínferos, los estambres de anteras juntas; y los estigmas son bífidos. Los Frutos son aquenio glabrosos.[14]

Figura 1. *mutisia acuminata* "chinchilcoma" en estado natural

Taxonomía de *Mutisia acuminata* "chinchilcoma":

La muestra fue identificada en el museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (N°127-USM-2018) según el sistema de clasificación de Cronquist (1988). *mutisia acuminata* "chinchilcoma"; así también se efectuó la clasificación por parte del Dr. blgo, David Máximo Miranda Huamán de la Facultad de Ciencias Biológicas

profesional autorizado y reconocido por nuestra Facultad. Se tiene la siguiente posición taxonómica:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: Mutisia

Especie: *mutisia acuminata R&P*

Nombre común: chinchilcoma

Figura 2. Flor y hoja de la *mutisia acuminata* "chinchilcoma"

Distribución de *mutisia acuminata* "chinchilcoma":

Es una especie de estado silvestre, las cuales se hallan en las zonas andinas del Perú, crece en las 10 zonas altoandinas como en las quebradas y en matorrales y en los bordes de las

vías y carreteras. Su florescencia se origina en los meses de junio y agosto, se les encuentra en varias regiones del Perú desde la sierra central y sur del país hasta Bolivia, Chile y Argentina, .[15]

Figura 3. Provincia de Lucanas, donde se encuentra el distrito de Puquio

Usos tradicionales de *mutisia acuminata* "chinchilcoma".

Se utiliza como purgante y diurético; sus lígulas en infusión o masticadas son consideradas cardiotónicas. Las hojas y ramas jóvenes de *Mutisia acuminata* son usadas en forma superficial como antiséptico. La hervido de las hojas y el jugo de la planta fresca son recomendadas y utilizadas en el tratamiento de úlcera gástrica, emoliente, colagoga, antiinflamatoria, antitumoral, así como también para enfermedades respiratorias.[16]

1.5.2 Antioxidante

Sustancia que posee la capacidad de prevenir o retrasar la oxidación de un sustrato, teniendo como sustrato o moléculas dianas a proteínas, lípidos, hidratos de carbono e incluso el ADN.

Un antioxidante también puede ser capaz de inactivar o bloquear los radicales libres, saneando y evitando el daño ocasionado por la oxidación acumulada.

Tabla 1. Tipos de antioxidantes

Exógenos	Endógenos No enzimáticos.
Vitamina E (VE)	Glutatión. Coenzima Q
Vitamina C (VC)	Ácido tiótico.
Betacaroteno (BC)	Enzimáticos. Cofactor.
Flavonoides	Superóxidodismutasa (SOD), cobre, manganeso, zinc. Catalasa (CAT), hierro
Licopeno	Glutatiónperoxidasa (GPX) Selenio

Fuente: Mayor R. 2010 (http://scielo.iics.una.py/pdf/imt/v5n2/v5n2a05.pdf)[17]

Beneficios de los antioxidantes

Los antioxidantes ofrecen diversos beneficios para la salud, en lo referente a la prevención de dolencias o males que afectan a las personas como el cáncer de corazón y pulmones, cataratas, envejecimiento, mal del Párkinson, enfermedades autoinmunes, enfermedades degenerativas de la piel, ojos y el cerebro. En tema del cáncer se sostiene que pueden impedir que este surja, aunque no se conoce con certeza cómo. Algunos mecanismos o vías serían: Contribuyen a contener las transformaciones liberadas por el ataque de los radicales libres. El adicionar β caroteno ayuda a inmovilizar los cambios malignos ocasionados por los radicales libres, lo que previene que éstos ataquen el material hereditario en las células [18].

TABLA 2 Función de antioxidantes no enzimáticos	
Antioxidantes no enzimático	**Función Fisiológica**
Vitamina E	Principal antioxidante presente en la membrana celular
Vitamina C	Efecto eliminador de radicales y recicla la vitamina E.
Ácido úrico	Su efecto es eliminar los radicales hidroxilo
Glutation	Tiene varios efectos en la defensa antioxidante celular.
Ácido lipoico	Antioxidante eficaz, y es un sustituto eficaz del glutation.
Carotenoides	Antioxidante de lípidos
Bilirrubina	Producto del metabolismo del grupo hem de la hemoglobina y tiene un efecto antioxidante a nivel extracelular
Ubiquinonas	Derivado de quinonas lipídicas solubles, cuyas formas reducidas tienen efectos eficaces como antioxidantes

Fuente: Zamora 2007[19]

1.5.3 Radicales Libres

Los radicales libres son especies moleculares muy reactivas con un electrón no apareado; sólo persisten durante un tiempo muy breve antes de reaccionar con otra molécula y extraer o conceder un electrón para conseguir la estabilidad. Al hacerlo, originan un nuevo radical a partir del sustrato con el cual colisionan. La principal forma en cual se inactiva un radical libre, y así terminar con la reacción en cadena, es la reacción entre dos radicales libres, cuando los electrones desapareados de ambos forman par en una u otra de las moléculas iniciales. Este hecho es insólito, debido al muy breve tiempo de vida media de un radical individual y las muy bajas concentraciones en que se localizan los radicales en los tejidos. Los radicales libres más nocivos para los sistemas biológicos, son los radicales producidos por el oxígeno (muchas veces designados como especies reactivas de oxígeno), en especial hidroxilo, superóxido y perhidroxilo. El deterioro en el tejido originado por los radicales de oxígeno se denominarse daño oxidativo.[20]

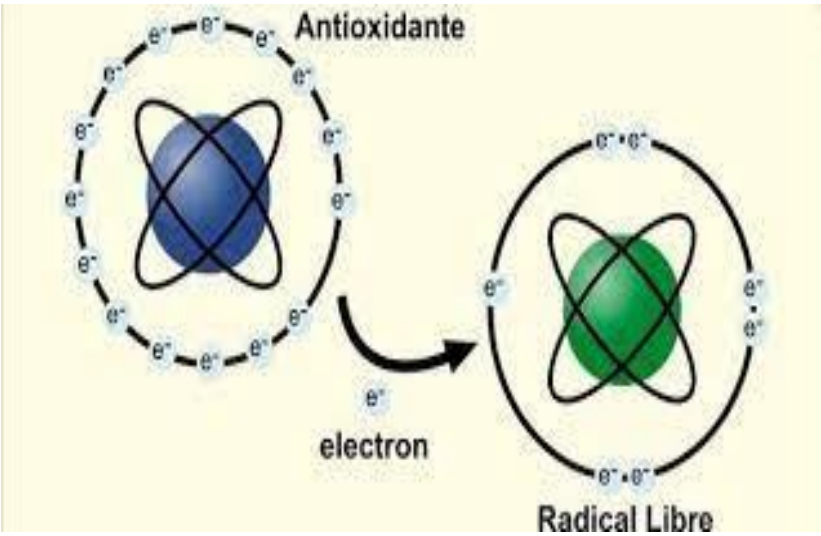

Figura4. Estructura representativa de antioxidante

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) son radicales libres que se derivan de la molécula de oxígeno (O_2) por una parcial reducción química. En este conjunto de compuestos están los peróxidos de hidrógeno (H_2O_2), originados cuando el Oxigeno es reducido con 2 electrones, y los tipos reactivos del oxígeno, que encubren a los superóxidos y al radical hidroxilo (OH-) [21].

Las EROs cumplen un papel importante e incuestionable en los numerosos procesos fisiológicos frecuentes a nivel celular; pero también, pueden producir efectos tóxicos. Las EROs son resultantes del propio metabolismo y son fundamentales en el proceso de producción de energía, la biosíntesis de los compuestos biológicamente esenciales y en el proceso fagocitario, un proceso fundamental dentro del sistema inmunológico. También desempeñan un rol esencial en la transducción de señales, es transcendental para la interrelacion y función de las células. En los últimos se ha incrementado la evidencia que demuestran que las EROs logran ser las generadoras de distintos sufrimientos, enfermedades coronarias, incluso del cáncer y el envejecimiento. La acción del radical hidroxilo frente a las grasas insaturadas es la cascada más escrupulosa de daño inducido por radicales (ADN).[21]

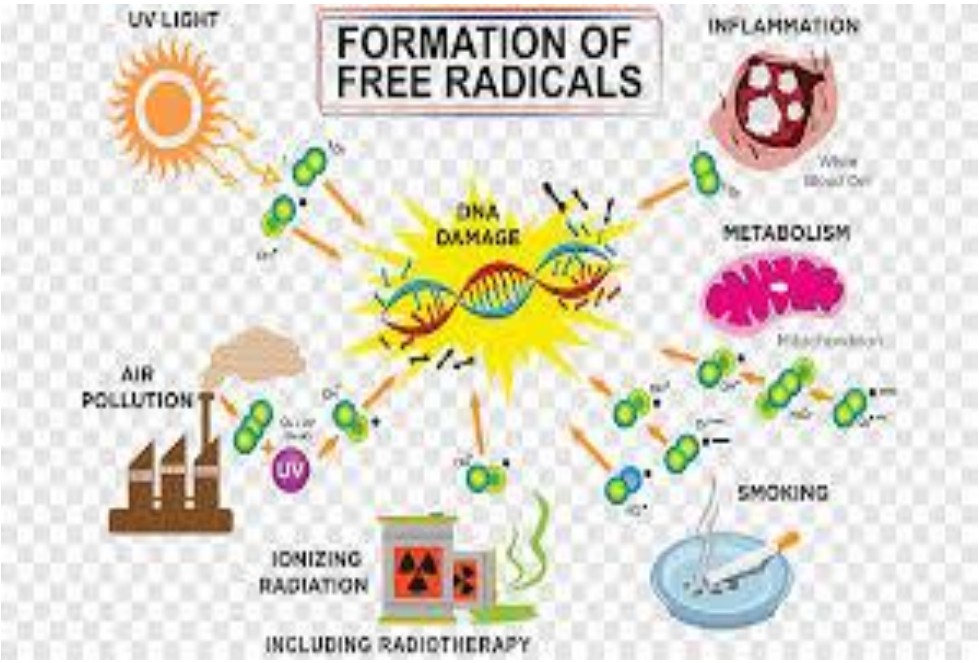

Figura 5. Fuentes de formación de radicales libres.

1.5.5 Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo es un estado producido por diversos procesos patológicos o bajo ciertas circunstancias particulares como el proceso de envejecimiento. En este proceso varios factores de crecimiento y citosinas, así como algunas enzimas entre la que sobresale NADPH oxidasa forman EROs como mediadores en la señalización. Está relacionado con los procesos de oxidación/reducción de grupos sulfihidricos (-SH) en los residuos de cisteína en ciertos sitios catalíticos de algunas proteínas que se discurren como detectoras del estado redox. Estas proteínas varían su estructura conformacional al reducir u oxidar los grupos sulfhídricos (-SH) presentes y pasar a -S-S-, por lo se lograrían activar algunas rutas de señalización o liberar algunos factores de trascripción que se activan y son capaces de provocar translocación a nivel nuclear.[22]

Figura 6. Representación esquemática del estrés oxidativo

Fuente: https://www.institutovalencianodeozonoterapia.com/estres-oxidativo/

II. ESTRATEGIA METODOLOGICA

2.1 Tipo, Nivel y Diseño de la Investigación

2.1.1 Tipo de Investigación:

Básica

2.1.2 Nivel de Investigación:

Descriptivo - Explicativo

2.1.3 Diseño de Investigación:

Analítico

2.2 Lugar de Investigación:

Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Facultad de Farmacia y Bioquímica, departamento de Ciencias Químicas.

2.3 Materiales de Trabajo

2.3.1 Materiales de Laboratorio:

- Probetas 10 ml, 50 ml y 100 ml
- Matraces Erlenmeyer
- Balones
- Fiolas
- Agitadores de vidrio
- Vasos de precipitado
- Tubos de ensayo
- Gradillas

- Espátulas de metal
- Vasos de vidrio
- Embudos
- Luna de reloj
- Pinzas metálicas
- Micropipetas de 100uL
- Micropipetas de 1000uL
- Pipetas de 1 ml, 5 ml y 10 ml
- Propipetas
- Baguetas
- Peras de Bromo
- Soporte Universal
- Aro de Soporte

2.3.2 Equipos de Laboratorio:

- Balanza Analítica
- Potenciómetro
- Refractómetro
- Mufla
- Evaporador rotatorio
- Espectrofotómetro UV-Visible

2.3.3 Reactivos

- Agua destilada
- Etanol 96º
- Alcohol 70º
- Tricloruro férrico
- Diclorometano
- Ácido Clorhídrico
- Acetato de sodio
- Hidróxido de Amonio 25%
- Ácido acético glacial
- Ácido nítrico
- 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH)
- 2,4,6- tripiridyl-s-triazida (TPTZ)
- Trolox Hoffmann
- ABTS
- Persulfato de sodio

2.3.4 Otros

- Guantes
- Mascarilla
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Papel tissu
- Papel toalla
- Viales

2.4 Hipótesis y Variables.

2.4.1 Hipótesis

a. General:

- El extracto etanólico de las partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" presenta metabolitos secundarios y actividad antioxidante**.**

b. **Especificas:**

- El extracto etanólico de las partes aéreas de la planta *mutisia acuminata* "chinchilcoma" presenta diferentes metabolitos secundarios como flavonoides, esteroides/triterpenoides, alcaloides, taninos, taninos.

- El extracto etanólico de las partes aéreas de la planta *mutisia acuminata* "chinchilcoma" presenta actividad antioxidante por el método DPPH.

- El extracto etanólico de las partes aéreas de la planta *mutisia acuminata* "chinchilcoma" presenta actividad antioxidante por el método FRAP.

- El extracto etanólico de las partes aéreas de la planta *mutisia acuminata* "chinchilcoma" presenta actividad antioxidante por el método ABTS.

2.4.2 Variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA VALORATIVA
VARIABLE INDEPENDIENTE			
Extracto etanólico de las partes aéreas *de mutisia acuminata "chinchilcoma"*	**Conceptual:** El extracto etanólico es obtenido de la maceración de las partes aéreas secas, seguido de un proceso de filtrado para obtener el concentrado utilizando un evaporador rotatorio	-	-
	Operacional: Estudio fitoquímico: Reacciones de identificación de metabolitos secundarios: - Flavonoides. - Triterpenos. - Esteroides - Catequinas - Saponinas	- Cambio de coloración. - Formación de precipitado.	(+) Presencia (-) Ausencia
VARIABLE DEPENDIENTE			
Actividad antioxidante	**Conceptual:** La actividad Antioxidante tiene la capacidad de neutralizar los radicales libres de un compuesto.	-	-
	Operacional: Inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH).	Decoloración de la solución de DPPH	Concentración inhibitoria media IC 50
	Operacional: Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP).	Generación de una coloración azul	mM equivalentes Trolox/mL muestra.
	Operacional: Inhibición frente al radical 2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS)	Decoloración de la solución del radical ABTS	mM equivalentes Trolox/mL muestra

2.5 Población y Muestra

2.5.1 Población:

Especies de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" presentes en el Departamento de Ayacucho, provincia de Lucanas, distrito de Puquio.

2.5.2 Muestra:

Partes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma"

2.6 Métodos, técnicas y procedimientos para la recolección de datos

2.6.1 Recolección y clasificación de la muestra vegetal

La especie vegetal *mutisia acuminata* fue recolectada por la autora en el Distrito de Puquio, Provincia de Lucanas, Región Ayacucho ubicada de 3500 a 4500 m.s.n.m. La recolección se realizó en horas de la mañana, utilizando una tijera de podar y bolsas de papel Kraft para luego ser transportada a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica.

La muestra fue clasificada taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos según el sistema Croquist (1988); además como ya indicamos esta también fue clasificada por el Biólogo Miranda Huamán David Máximo.

2.6.2 Tratamiento de la muestra vegetal

Una vez realizada la recolección, se seleccionó la muestra vegetal en buen estado, se procedió a la limpieza para eliminar los residuos de tierra, suciedad u otras materias. Posterior a ello se realizó el secado a temperatura ambiente en un ambiente con buena ventilación y bajo sombra (laboratorio de química general). Luego las partes aéreas de la planta fueron fraccionadas manualmente hasta un tamaño adecuado[23].

2.6.3 Obtención del extracto etanólico

La planta seca y molida se empleó para la extracción con etanol 96º por un periodo de 15

días, con agitación frecuente interdiaria.

Posterior a ello se llevó a cabo el filtrado del macerado, la concentración se realizó en un evaporador rotatorio y finalmente secada en una estufa a temperatura menor a los 40 °C.

2.6.4 Screening Fitoquímico: [23]

Al trabajar con muestras vegetales el screening fitoquímico o tamizaje es la etapa inicial de la investigación fitoquímica, que nos lleva a identificar cualitativamente los principales compuestos o grupos químicos que se encuentran presentes en los extractos de las plantas o en las plantas mismas y a partir de ahí, orientarnos en la extracción y/o fraccionamiento, para el aislamiento y posterior estudio de los grupos de mayor interés. El tamizaje fitoquímico involucra la extracción de los metabolitos de la droga o planta con solventes apropiados y su posterior aplicación de reacciones de coloración y precipitación que ´permita su identificación. Estas deberán permitir la evaluación o identificación rápida, con reacciones sensibles y reproducibles.

Obtención de Fracciones

Se tomaron 600 g de las partes aéreas secas y pulverizadas de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" se adicionó alcohol al 96 % y se macero, con agitación periódica para optimizar la extracción de los metabolitos primarios y secundarios, se filtra y luego se procede a obtener un extracto seco mediante uso del evaporador rotario. Se separó una porción a la que se le llamo **Fracción A.**

Luego se extraerá con HCl al 1% (2x20 mL), se filtrará y se obtendrán dos partes:

Insoluble: Se lavará hasta pH neutro con agua destilada, seguidamente se disolverá con 5mL de diclorometano, luego se procederá a secar con sulfato de sodio anhidro, seguidamente se filtrará, este filtrado constituirá **la Fracción B** del extracto.

Solución ácida: Se procederá a filtrar y posteriormente se alcalinizará con una solución de amoniaco, extrayéndose con diclorometano (2x100mL) obteniéndose dos fases:

— **Fase Diclorometano:** El tratamiento se iniciará mediante el lavado con 10 mL de agua destilada, seguidamente se proceda a secar la fase diclorometánica con sulfato de sodio anhidro, se filtra para obtener **la Fracción C** del extracto.

— **Fase Acuosa:** Saturada con de sulfato de sodio anhidro 5g y se extraer con la mezcla diclorometano:etanol (3:2) con 2 porciones de 100mL. Obteniéndose dos fases:

Fase Orgánica**:** (Diclorometanol-etanol). Con 10 mL de solución de sulfato de sodio anhidro se lava, juntando las fases acuosas, la cual con 1g de sulfato de sodio anhidro se deshidratará la fase organica. Se filtra y esto constituye **la Fracción D.**

Fase Acuosa: Se reúnen todos los residuos acuosos obtenidos de los lavados de las fases orgánicas esto constituye **la Fracción E.**

Independientemente, se mezcla 1g de especie seca con un volumen de 20 mL de agua destilada se remueve, se hierve por 15 minutos. Se proceder a filtrar en caliente y llevar a volumen de 10 mL a través del filtro, enfriar a temperatura ambiente, esto constituye la **Fracción F**.

Separadas las fracciones se procederá a realizar reacciones de coloración o precipitación para identificar grupos funcionales y grupos de metabolitos presentes en el extracto etanólico de mutisia acuminata “chinchilcoma”.

Reacciones sobre las fracciones:

FRACCION A

Detección de Taninos:

1. **Reacción de gelatina-Sal.-** Se tomarán tres tubos de ensayo a los que se le adiciona 0.5 mL de extracto al 1° tubo se adiciona 1 mL de NaCl 5%, al 2°tubo se adiciona gelatina 1% y al 3° tubo gelatina – sal, la presencia de precipitado en el tubo 3° o en ambos tubos 1° y 2° indica la presencia de taninos, si ocurre

solamente con el 1°, podría ser un falso positivo.

2. **Reacción de Cloruro Férrico.-** En un tubo de ensayo se deposita 0,5 mL de la fracción A y se agrega de la disolución acuosa de $FeCl_3$ 1% unas gotas . La reacción resulta positiva si aparecen colores azul-negro, verde o azul verdoso.

Detección de Flavonoides

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

Detección de Aminoácidos

1. **Reacción de Ninhidrina.-** En tiras de papel filtro con una pipeta capilar se colocan:
   1. Una gota de Fracción A, más una gota de solución de ninhidrina al 2%.
   2. Blanco: Solución de ninhidrina al 2%.

   Secar a temperatura ambiente, luego las tiras se colocan en una plancha calefactora o estufa hasta la aparición de un color en el blanco.

   La reacción positiva si se presenta en el papel de la muestra un color azul violáceo.

<u>FRACCION B</u>

Detección de Triterpenoides y/o Esteroides:

1. **Reacción de Liebermann Burchard**: Tomar 1 mL de la fracción y adicionar gotas de ácido acético (5 gotas), seguidamente adicionar 3 mL de anhídrido acético/ácido sulfúrico (50:1).

La aparición de colores verdes, azul verdoso (vías rojo o azul) indica reacción positiva.

Detección de Antraquinonas:

1. **Reacción de Bornträger:** Disolver un resto de la fracción B en diclorometano, a la que se adiciona 5 mL de NaOH 5% , agitar suavemente. La reacción es positiva un color rojo aparece en la fase acuosa.

FRACCION C

Detección de Triterpenoides y/o Esteroides:

Reacción antes indica de Liebermann Burchard.

Detección de Alcaloides

En 4 tubos de ensayo independientes se coloca 2 mL de Fracción C y 1 mL de solución de HCl 1% y luego adiciona lo siguiente:

- ✓ **Dragendorff:** 2-4 gotas de reactivo y observar precipitado anaranjado.
- ✓ **Mayer:** 2 - 4 gotas de reactivo y observar precipitado blanco.
- ✓ **Hager:** 2 - 4 gotas de resctivo observar precipitado amarillo.

FRACCION D

Se lleva a sequedad y luego se adiciona 2,5 mL de etanol, se realiza las siguientes reacciones:

Detección de Flavonoides:

Reacción de Shinoda. Indicada anteriormente

Detección de Leucoantocianidinas y catequinas:

1. **Reacción de Rosenheim:** se toma 0,2 mL de la fracción D, agregar 0,1 mL de HCl concentrado, calentar por 10 minutos a 100 ºC. Enfriar, y adicionar 2 mL

de agua y 0,4 mL de alcohol amílico, sacudir suavemente y observar aparición de color en la fase amílica.

La aparición de color indica reacción positiva, y va desde el rosado débil incluso carmesí oscuro. Rojo indica presencia de antocianidinas, marrón indica presencia de catequinas.

Detección de Cardenólidos:

Mediante la reacción de kedde.

Detección de Esteroides y/o Triterpenoides:

Mediante reacción de Liebermann Burchard.

Detección de Alcaloides:

Mediante las reacciones de Mayer, Dragendorff, Hager .

FRACCIÓN E

Detección de Flavonoides:

Mediante la reacción de Shinoda.

Detección de Leucoantocianidinas:

mediante la reacción de Rosenheim.

FRACCION F

Detección de Saponinas

1. **Prueba de Espuma.-** En dos tubos de ensayo se coloca 2,5 mL del extracto y se agita por un minuto. Se dejar en reposo por 15 minutos y observar la formación de espuma. la reacción es negativa si la altura de la espuma es menor de 5 mm.

2.6.5 Características Fisicoquímicas del extracto

Sólidos totales.- **AOAC 925.03B**

Se pesó aproximadamente 2 g del extracto en una placa Petri, previamente se secó a 130° por una hora en la estufa se dejó enfriar en el desecador para finalmente ser pesado cuando se alcanzó la temperatura ambiente. [24]

Sólidos solubles: AOAC 932.12.

Se determinará por el método refractométrico, en el cual se prepara una suspensión al 10% y luego de calibrar el equipo se realiza la medición directamente[22].

Cenizas: AOAC 923.03

Se pesó de 1 a 3 g del extracto dentro de un crisol previamente incinerado a la temperatura de tratamiento (600°) y enfriado a temperatura ambiente en un desecador. Se incinero en la mufla a 600° por un periodo de 4 horas. Enfriar en el desecador y pese tan pronto alcance la temperatura ambiente. Se calculó el residuo como cenizas totales [24].

pH: AOAC 981.12

Se determinó por el método potenciométrico. Se disolvió cierta cantidad del extracto con 10 ml de agua destilada en un vaso precipitado de 25 ml y calibra el potenciómetro con solución Buffer ph7 y pH 4 luego se introduce el electrodo se procederá a leer el resultado cuando se estabilice la lectura [24].

2.6.6 Determinación de la actividad antioxidante

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

La actividad antioxidante del extracto se realizó con el método Brand-Willians et al [23] con algunas modificaciones .

Elaboración del DPPH:

Se preparó pesando 3,6 mg de DPPH y se disolvió en 100 mL de metanol en un fiola. La solución se colocó en un sonicador para asegurar la buena disolución y luego se comprobó que la absorbancia esté ente 0,9 y 1,1 a 517 nm.

Elaboración de la muestra:

Se llevaron a cabo disoluciones en etanol de la muestra; tomó a partir de un peso

0,076,8 g de muestra se adiciono 5 mL de etanol se preparación una batería de diluciones. Se tomo 2,9 mL de la solución de DPPH, a la que se adiciono 0,1 mL de cada una de las diluciones respectivas, se agito y se dejó reposar en la oscuridad por un promedio de 30 min. Pasando este periodo de tiempo las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro de UV/VIS a 517 nm.

Se utilizó como blanco al etanol.

El ensayo se realizó por duplicado. Los resultados experimentales se expresaron como el valor IC_{50}, es decir, la concentración de la muestra problema necesaria para producir una inhibición del 50% la absorbancia del radical libre DPPH.[25]

2.6.6.2 **Método del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP)**

Se siguió método descrito por Benzie y col[26] algunas pequeñas modificaciones.

El método se fundamenta la capacidad de una muestra de reducir el ion hierro férrico (Fe+3) de un complejo formado por 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta el estado ferroso (Fe+2), a la longitud de onda de 593nm.

El reactivo FRAP se prepara mezclando el buffer acetato 300 mM (pH = 3.6), la solución del reactivo TPTZ 10 mM en HCl 40 mM y solución acuosa de tricloruro férrico ($FeCl_3$. $6H_2O$) 20 mM en proporción 10:1:1 (v:v:v). Para la reacción se añade 3 mL de este reactivo en una cubeta y se mide la absorbancia a 593 nm inicial. Posteriormente se agrega 100 µL de las diluciones del extracto, se agita. Se deja en reposo por 6 min y se realiza la lectura de absorbancia a 593 nm. Para obtener la absorbancia final se tiene que restar de la absorbancia del blanco o inicial.

Los resultados se formularon en relación al patrón trolox. Para ello se efectuo una curva de cuantificación en un rango de concentraciones de 1.00 - 0.03 mM y se procede de forma igual como la muestras. Todas las determinaciones se efectuaron por duplicado. Los resultados de absorbancia de la muestra se

extrapolan en la curva patron mediante la ecuación de esta para expresar la actividad antioxidante en relación con los milimoles de trolox.[26]

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

Se realizó según el método de Re y col.[27]. Se valora la decoloración del radical libre ABTS•+, producida por la interacción con especies donadoras de hidrógeno o de electrones. El ABTS•+ es un radical catiónico, colorante que absorbe la radiación a una longitud de onda de 734 nm y es formado por una reacción de oxidación del reactivo ABTS (2,2'-azino-bis-3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) con persulfato de potasio.

Se preparó el reactivo de trabajo el cual presenta una concentración ABTS de 30 µM aproximadamente. Se pesa 0.0504g de la sal amónica cristalizada del reactivo ABTS y se disolvió en 5 ml de agua grado HPLC, luego se agrega 6.7 mg de persulfato de potasio (K2820a), se deja descansando un promedio de media hora envuelto en papel aluminio, transcurrido el tiempo se traslada a un matraz volumétrico (fiola) de 10 ml y se enrasa con agua grado HPLC y se deja interaccionar protegido de la luz durante 12 a 18 horas. Luego se prepara la solución de trabajo utilizando 1 ml del radical formado y se agrega alrededor de 70 ml de tampón fosfato de pH 7.1 se homogeniza y se mide la absorbancia a 734 nm que debe ser 0.680 ± 0.2.

La determinación de la actividad antioxidante se realiza tomando 1 ml del radical ABTS* en una microcelda y se mide la absorbencia inicial a 734 nm, se adiciona 25 µl de las cada diluciones independientemente, se agita durante 10 segundos y se deja reaccionar por 4 minutos de incubación, se mide la absorbancia final. Todas las muestras se analizaron por duplicado.

Los resultados se expresan como la concentración en 1 mg del extracto que tiene la misma actividad antioxidante que una concentración en mM de Trolox. Para ello es preciso realizar una curva de calibración con concentraciones diferentes

de Trolox frente a las proporcionadas variaciones de absorbancias del radical. Se efectuaron diluciones a partir de una solución madre en un intervalo de 0,50 a 0,03 mM y se analizaron forma similar que el extracto etanólico[27].

2.7 Técnicas de procesamiento de la información

- Recolección de datos analíticos

Se realizó en los cuadernos de trabajos donde se registraron los resultados obtenidos de las aplicaciones de las técnicas analíticas empleadas en cada caso.

- Procesamiento de datos

Los datos fueron procesados en el Programa Microsoft Excel 2013 y se expresan como promedios a partir de los cuales se elaboraron los gráficos respectivos.

2.8 Técnicas de Análisis e interpretación de la información

Los datos adquiridos durante los diferentes procesos de análisis de la determinación de la actividad antioxidante fueron sometidos a técnicas de análisis paramétricas como: promedio de cada determinación y su desviación estándar, y técnicas no paramétricas: coeficiente de correlación para hallar IC_{50} o el TEAC correspondiente al método aplicado.

2.9 Aspectos éticos

En la presente investigación se ha cuidado los aspectos éticos relevantes de todo trabajo universitario como herramienta del saber científico que permite un avance de la sociedad, evitando la manipulación de todos aquellos factores que pudieran obedecer a interés particulares que desvirtúen los objetivos del estudio. Razón por lo que se ha citado, lo más adecuadamente posible todos aquellos artículos en los cuales nos hemos basados, cuidando los correspondientes derechos autor, consciente de ellos asumimos las

responsabilidades que de ello deriven.

III. RESULTADOS

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de caracterización el extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma".

Parámetros	**Resultados**	**Unidades**
Solidos totales	85,49 ± 1,73	g/100g
Humedad	14,76 ± 1,43	g/100g
Solidos solubles	4,2 ± 0,63	° Brix
pH	3,75 ± 0,17	--
Cenizas	4,67 ± 0,21	g/100g
Color	Negro verdoso	--
Aspecto	Pasta densa y viscosa	--
Olor	Suigéneris	--

Los valores son promedios de tres repeticiones

Tabla 4. Determinación de Metabolitos secundarios del extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma".

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

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

Tabla 5. Lectura de absorbancia de patrón de trolox por el método de DPPH

trolox mg/mL	Abs1	Abs2	Prom	% Inh
0.242	0.034	0.033	0.034	96.6
0.121	0.466	0.457	0.462	53.8
0.061	0.724	0.699	0.712	28.8
0.03	0.875	0.874	0.875	12.5
0.015	0.94	0.923	0.932	6.8
Blanco	1,00			

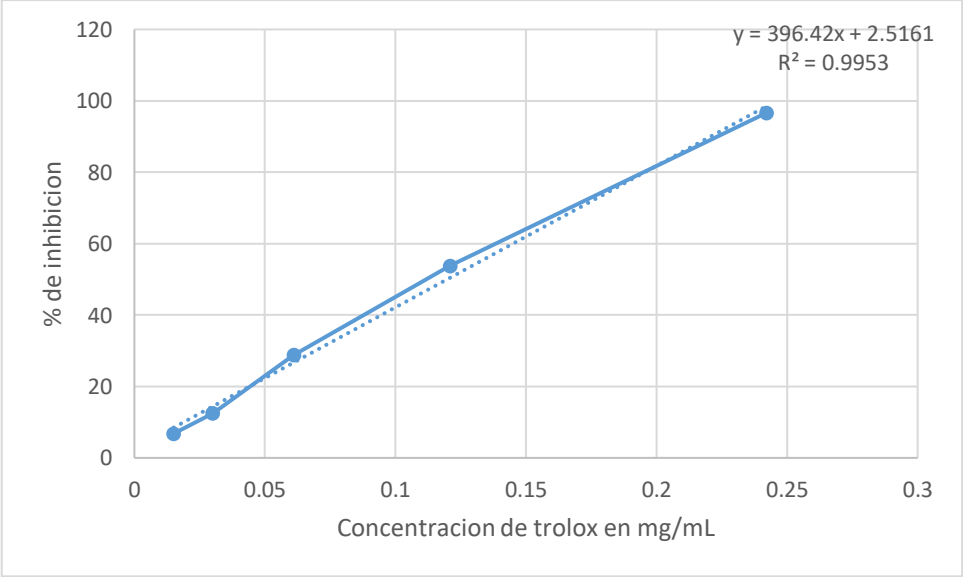

Figura 7. Correlación entre las concentraciones de trolox y % de inhibición del radical DPPH

IC 50= 0,120 mg de trolox

Tabla 6. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" por el método DPPH.

Extracto mg/mL	Abs1	Abs2	Abs Prom	% Inh
3.76	0.283	0.28	0.282	71.8
1.87	0.591	0.586	0.589	41.1
0.94	0.757	0.751	0.754	24.6
0.47	0.867	0.859	0.863	13.7
0.24	0.924	0.924	0.924	7.6

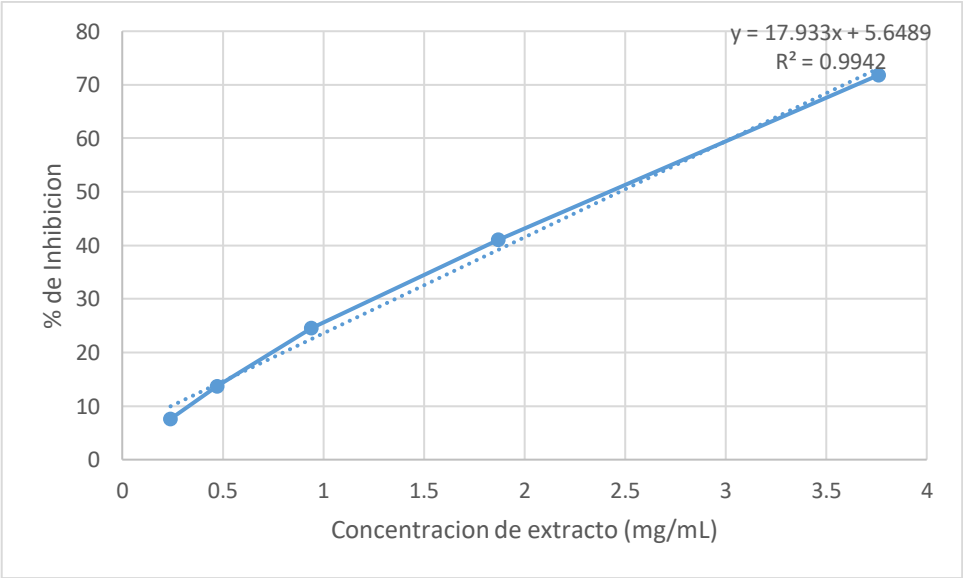

Figura 8. Correlación entre concentración del extracto y porcentaje de inhibición

IC50 = 2,47mg

0,120 mg de trolox equivalente a 2,47mg/mL de extracto

Tabla 7. Valores de absorbancia de las diluciones patrones de trolox por el método FRAP

mM Trolox	Abs 1	Abs2	Promedio
0.0312	0.076	0.073	0.0745
0.0625	0.129	0.124	0.1265
0.125	0.247	0.241	0.244
0.25	0.425	0.421	0.423
0.5	0.877	0.872	0.8745
1	1.505	1.513	1.509

Figura 9. Curva de calibración de trolox para la determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP

Tabla 8. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" por el método FRAP.

Extracto mg/mL	Abs1	Abs2	Prom	TEAC
0.63	0.146	0.142	0.144	0.061
1.26	0.319	0.312	0.316	0.177
2.52	0.586	0.583	0.585	0.357
5.04	1.148	1.149	1.149	0.735

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

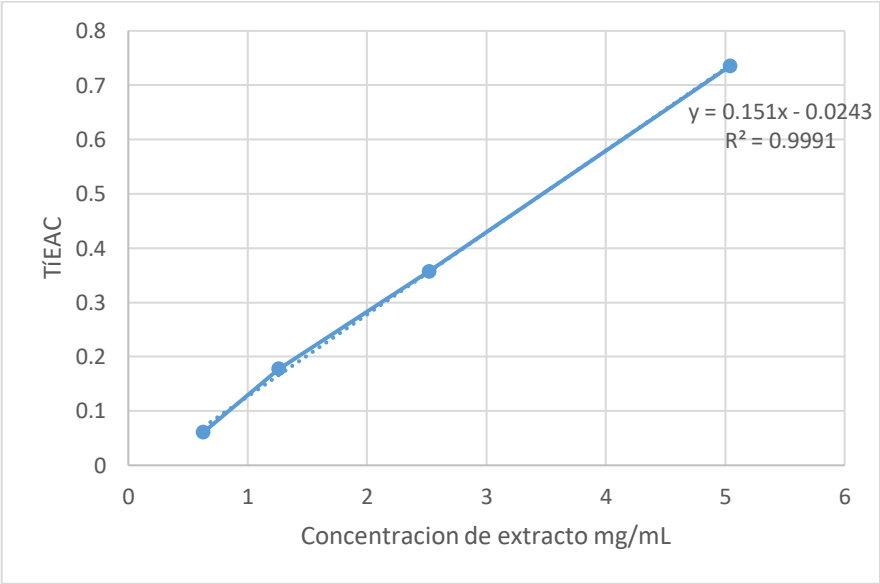

Figura 10. Correlación entre concentración del extracto etanólico de la especie *mutisia acuminata* y TEAC (mM)

1mM de trolox equivale a 6.78 mg/mL de extracto

Tabla 9. Lectura de absorbancia de las disoluciones de patrón de trolox por el método de ABTS.

mM trolox	Abs incial	Abs1	Abs 2	Prom	Abs final
0.0152	0.68	0.591	0.629	0.610	0.07
0.0325	0.68	0.573	0.567	0.570	0.11
0.0625	0.68	0.53	0.538	0.534	0.146
0.125	0.68	0.449	0.457	0.453	0.227
0.25	0.68	0.275	0.286	0.281	0.399
0.5	0.68	0.023	0.023	0.023	0.657

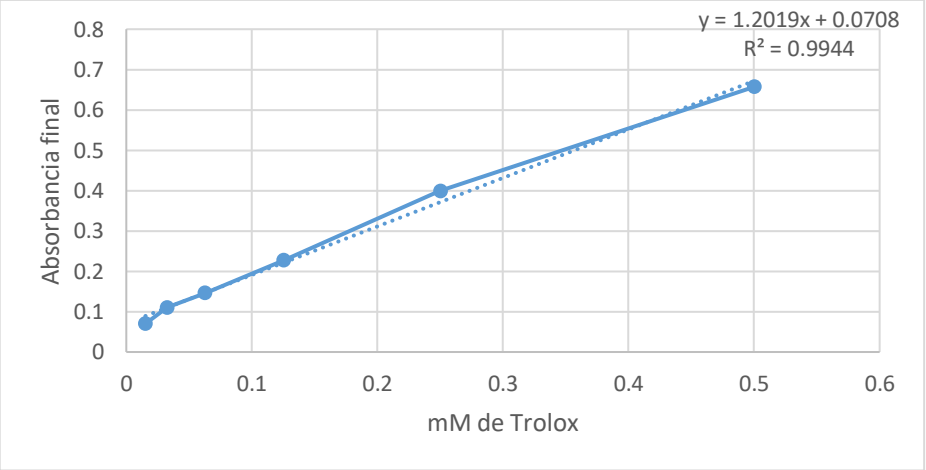

Figura 11. Curva de cuantificación de trolox para la determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS

Tabla 11. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico de la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" por el método ABTS.

mg/mL de extracto	Abs 1	abs2	Prom	TEAC
0.63	0.085	0.095	0.09	0.016
1.26	0.172	0.188	0.18	0.091
2.52	0.356	0.366	0.361	0.241
5.04	0.711	0.729	0.72	0.540

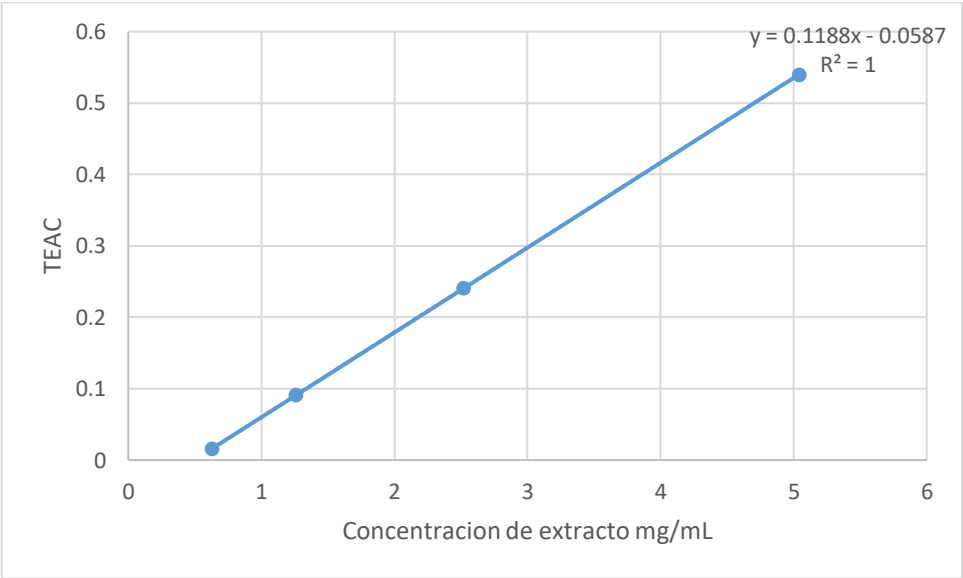

Figura 12. Correlación entre concentración de extracto etanólico de la especie *mutisia acuminata* y capacidad antioxidante equivalente a trolox como milimoles.

1mM de trolox equivale a 8,91 mg/mL

IV. DISCUSION

El Perú es uno de los países con mayor diversidad, debido a los diferentes nichos ecológicos que posee, con una flora de aproximadamente 25 mil especies, de las cuales una tercera parte son endémicas. La mayor parte de estas especies se hallan en la amazonia y los diversos nichos de la serranía, de las cuales muchas de ellas ni siquiera han sido identificadas (INS 2022)[28]. Una gran proporción de la población mundial en los países en desarrollo no tiene acceso a la medicina galénica y recurren a las diversas medicinas alternativas, en la etnobotánica los usos de plantas medicinales cumplen un rol fundamental en el tratamiento de muchas enfermedades en bases a conocimientos ancestrales transmitidos de generación en generación. Con el desarrollo de la medicina moderna, este conocimiento ancestral vino a ser devaluado por los sistemas profesionales de la salud que se han centrado con énfasis en los medicamentos industrializados que se ha introducido gradualmente en la vida cotidiana de la sociedad, aunque actualmente, los sistemas de ciencia y salud vienen tomando atención al uso de las plantas medicinales (Heisler y et al., 2015)[29]. Una especie usada por la medicina popular de las zonas andinas y que ha sido poco estudiada es la especie *mutisia acuminata* "chinchilcoma" propia de los andes sudamericanos y la cual existen hasta tres variedades. La especie del presente estudio fue colectada en el distrito de Puquio departamento de Lucanas y departamento de Ayacucho, de la cual se recolecto las partes aéreas constituidas por hojas, tallos herbáceos y unidades floridas. El extracto etanólico se obtuvo por maceración con alcohol de 96 °C durante 15 días, al concentrar el extracto se obtuvo una pasta densa viscosa y de color negro verdoso, que presento las características fisicoquímica determinadas en la tabla 1, en la cual se puede observar que el contenido de humedad (que significa el contenido de agua residual) es menor al 15%; por lo tanto el contenido de solidos totales es la diferencia que esta constituidos por los compuestos orgánicos e inorgánicos presentes en ella, de todos estos compuestos solo aproximadamente el 4 por ciento son sólidos solubles en agua, lo que indica que la mayoría de los compuestos presentes son de naturaleza medianamente polar, el contenido de compuestos inorgánicos está representado por el contenido de cenizas y que

representa aproximadamente un 4,67%; el extracto en una solución al 10% presenta un rango ácido de aproximadamente un pH de 3,75 estos datos no han sido posible contrastar con ningún trabajo publicado porque no reportan estos parámetros que sería importante en un proceso de estandarización del extracto obtenido de esta especie si deseáramos obtener un producto reproducible.

En la tabla 2, podemos observar los resultados de la identificación de los grupos de metabolitos secundarios en las diferentes fracciones obtenidas como resultados del screening fitoquímico aplicado al extracto crudo. En la fracción A solo se obtuvo resultado positivo para los metabolitos flavonoides y aminoácidos libres siendo la reacción para taninos negativa, este caso se encontró cierta diferencia a lo reportado por Roman y Zedano 2020[15], Borja 2013 y Coaguila y Yauri 2014[31], quienes reportan la presencia de taninos en un extracto hidroalcohólico, pero coinciden con Inocente, 2017 quien solo reporta presencia de flavonoides. Con respecto a la fracción B, algunos autores reportan la presencia de triterpenos y/o esterioides mientras que otros no, sin embargo, todos los artículos reportados coinciden en la ausencia de antraquinonas. En lo referentes a las fracciones C y D todos los autores referenciados coinciden en la presencia de alcaloides y compuestos fenólicos y por último con respecto a la fracción E, existe concordancia en la presencia de flavonoides mas no de catequinas.

Considerando que los antioxidantes naturales están cobrando gran interés en las últimas décadas, por la relación hallada entre un gran número de enfermedades degenerativas y el estrés oxidativo, el consumo de antioxidantes exógenos podría representar una alternativa en el tratamiento o en la prevención de muchas de esas enfermedades degenerativas. La determinación de la actividad antioxidante de los extractos vegetales se realiza por diversos métodos *in vitro*, mediante los mecanismos que existen como: son la transferencia de electrones libres y la transferencia de átomos de hidrogeno. Considerando que cada método puede actuar por uno o más mecanismo y los complejos de la composición de un extracto vegetal, se hace necesario para asegurar la posible actividad antioxidante de un extracto

determinarlas por más de un método que implique diversos mecanismos. En ese contexto en este trabajo se determinó la actividad antioxidante por unos de los tres métodos in vitro más empelados como son DPPH. FRAP y ABTS

Cuando se determina la actividad antioxidante por la capacidad de captación del radical DPPH, basado en la actuación de ambos mecanismo mencionados con la priorización de la transferencia de átomos de hidrogeno podemos apreciar una actividad antioxidante considerable ya sea que se exprese como equivalentes de trolox o por la expresión del IC50 (que es la concentración del extracto que inhibe el 50% de la absorbancia del radical en las condiciones utilizadas), por lo que creemos que dicha actividad está fuertemente relacionada con los tipos metabolitos secundarios identificados.

En la tabla 7 y grafico 9 podemos ver los valores de las diversas soluciones de trolox empleado como patrón de referencia por el método de FRAP; la tabla y grafico nos permite obtener la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las partes aérea de la *mutisia acuminata* "chinchilcoma" con un valor apreciable, debemos recordar que este método basado en la capacidad de reducción de ion férrico hace uso exclusivo del mecanismo de transferencia de electrones. Si bien es cierto no hemos hallado ningún trabajo que determine la actividad antioxidante por este método para esta especie, existe un reporta para la especie *mutisia mathewsii (Arones 2022)*[32] con valores muy cercanos (118,7 ± 0,3), expresados como CI50 en ug/mL.

En la tabla 10 y gráfico 12, se muestran los resultados de la determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de la especie por el método del radical libre ABTS el cual implican ambos mecanismos priorizando el SET, donde se obtuvo un valor de 1mM de trolox equivale a 8,91 mg/mL, que se puede considerar una actividad apreciable.

V. CONCLUSION.

Del desarrollo del presente estudio titulado Compuestos Bioactivos y Actividad Antioxidante del Extracto Etanólico de las Partes Aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" concluimos:

- Los compuestos bioactivos presentes en el extracto etanólico de las artes aéreas de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" son predominantemente Flavonoides, alcaloides triterpenos/o esteroides.
- El extracto etanólico presenta una considerable actividad antioxidante por los tres métodos ensayados.
- El extracto etanólico de la parte aérea de *mutisia acuminata* "chinchilcoma" presenta una mayor actividad antioxidante por el método del DPPH.

VI. RECOMENDACIONES.

Visto la variabilidad de los grupos de metabolitos secundarios que presenta la especies dependiendo de la zona de origen se recomienda estudios complementarios como:

- Cuantificación de compuestos fenólicos totales y flavonoides del extracto etanólico.
- Determinación del tipo de compuestos flavonoides presentes por métodos cromatográficos y espectroscópicos.
- Determinación de la posible actividad antiinflamatoria considerando la apreciable actividad antioxidante.
- Determinación de los posibles compuestos minerales presentes en el extracto que debe estar actuando como factores de algunos compuestos antioxidantes enzimáticos.

VII. FUENTES DE INFORMACION.

1. Venereo, J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista Cubana de Medicina Militar, (2002). 31 (2), 126-133.
2. Alarcón R., Salcedo Y. y Sosaya M. Evaluación de la actividad antioxidante y hepatoprotectora del extracto etanólico de flores de Cordia lutea LAM. “Changuaro” [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Ica: Universidad Nacional "San Luis Gonzaga"; 2018.
3. Drago, M.E., López, M., Sainz, T.D. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 37(4), 58-68.
4. Sánchez, V., Méndez, N. (2013). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Rev Invest Med Sur Mex, 20(3), 161-168.
5. Rodríguez JM, Menéndez JR, Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. Rev. Cub. Med. Mil [Internet]. 2001 Mar [Citado 2020 Feb 24]; 30(1): 15-20. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572001000100007&lng=es
6. Yarlequé M, Bonilla P, Rueda L. Aislamiento de dos flavonoides *Mutisia acuminata* "chinchilcoma” y su efecto sobre el plasma humano. Anales de la Facultad de Medicina de la UNMSM. [artículo en internet] 2002.
7. Juárez B, Mendiondo M. Flavonoids from Mutisia acuminata. Pharmaceutical Biology [revista en internet]. 2003; 41(4):291-292. Disponible en: http://www.encognitive.com/fiIes/F|avonoids20from%20Mutisia %20acuminata.
8. Gomero B, Centea T. Estudio Fitoquímico y Toxicidad Aguda de las hojas del extracto etanólico de Mutisia acuminata R&P. En: III Simposio Jornada de Investigación 2012: XIV Concurso de Estudiantes Investigadores 2012 Lima; Universidad Privada Norbert Wiener, 2012. P. 60
9. Omonte Q.D. Actividad antioxidante de la crema elaborada a base de los compuestos fenólicos aislados de las flores de Mutisia acuminata R&P "chinchilcoma". Ayacucho, 2013. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
10. García F. Evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de Mutisia acuminata, en ratas Albinas cepa Holtzman.2014 Tesis Universidad - Lima.

11. Chávez, F. "Determinar el efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de Mutisia acuminata." Tesis Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2017-Peru.
12. Inocente T. Tesis:" Efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de Mutisia acuminata R.&P. "chinchemano" en lesiones gástricas inducidas por naproxeno sódico."2017-Lima.
13. Roman M, Zedano D. "Efecto antiulceroso del extracto hidroalcoholico de las hojas de Mutisia acuminata en rattus norvergicus Holtzman" 2019 – Perú. Tesis. Universidad Maria Auxiliadora.
14. Mutisia acuminata Ruiz et Pav. Revista Chilena de Flora y Vegetación. [Internet]. Disponible en http://www.chlorischile.cl/Linares/apend4.htm.
15. Alvarado B. "Actividad antioxidante y citotoxica de 35 plantas medicinales de la cordillera negra" Tesis maestría. Facultad de Farmacia y Bioquiica. Universidad Mayor de San Marcos . 2017- Perú
16. Mayor R. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. Rev. Inst. Med. Trop. 2010;5(2):23-29
17. Santander M, Osorio M. Evaluación de propiedades antioxidantes y fisicoquímicas de una bebida mixta durante almacenamiento refrigerado. Rev. Cienc. Agr. España. Junio 2017 (Internet), 84-97p (Citado 2018 Set. 10) 34 (1) Disponible en: file:///C:/Users/pc/Downloads/document%20(4).pdf
18. Zamora S Juan Diego. ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD. Rev. chil. nutr. [Internet]. 2007 Mar [citado 2023 Mar 27] ; 34(1): 17-26. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002&lng=es. http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002.
19. Muray k, Mayes A. Bioquímica de Harper 15a Ed. Editorial el Manual Moderno, S.A. de CV. Mexico D.F.2001.742p.
20. Carrillo R, Díaz JA, Peña CA, Flores OI, Neri R., Zepeda A.D. et al., Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico. Rev. UNAM. 2016; 59(1):6-18
21. Coronado H, et al. Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. Revista Chil. Nutr. Vol. 42, Nº2, Chile. Junio 2015 (Internet) (citado 2018 Agos. 05) Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf
22. Olga L. , Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio de productos naturales, .(1994) Perú- Lima ,2°edicion,PUCP, pág 7

23. AOAC. Methods Officials of Analysis. AOAC International, 16ª Edition. Rockville, Maryland. 2012.
24. Brand-Willlliams W, Cuvelier M, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss Technol. 1995;28:25-30.
25. Benzie I, Strain J. The ferric reducing ability of plas- ma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Anal Biochem.1996;239:70-6
26. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 1999;26:1231-7
27. INS. Instituto Nacional de Salud. Plantas Medicinales. Ministerio de Salud. 2022. Disponible en: https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional/plantas-medicinales
28. Heisler Elisa Vanessa, Budó Maria de Lourdes Denardin, Schimith Maria Denise, Badke Marcio Rossato, Ceolin Silvana, Heck Rita Maria. Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña. Enferm. glob. [Internet]. 2015 Jul [citado 2023 Abr 03] ; 14(39): 390-403. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412015000300018&lng=es.
29. Borja B,K. Efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de Mutisia acuminata R. & p. "Chinchilcuma" Tesis Universidad Norbert Wiener. 2013
30. Coaguila H, R. y Yauri Q, N. "Determinación del efecto analgésico tópico del extracto y crema de hojas de Mutisia acuminata (Chinchircuma) en animales de experimentación 2013. Trabajo de Tesis presentado por las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica. Universidad CATÓLICA DE SANTA MARÍA Arequipa, 2014
31. Aronés-Jara, Marco Rolando, Cárdenas-Landeo, Edgar, Luna-Molero, Hugo Roberto, Barbarán-Vilcatoma, Stephany Massiell, & Gómez-Quispe, Mónica. (2022). Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *88*(2), 165-179. Epub 30 de octubre de 2022.https://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v88i2.388