

ISSN Impreso: 1810-634X  
ISSN on line. : 2309-8740

# REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

Volumen 89 N° 4  
OCTUBRE - DICIEMBRE 2023



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ



**REVISTA**  
**de la**  
**SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**  
**(Rev Soc Quím Perú)**  
**ISSN impreso: 1810-634X**  
**ISSN on line: 2309-8740**  
**Revista Trimestral**

**Comité Editor**

Editor en Jefe : Ana Cecilia Valderrama Negrón  
Miembros : Julio Santiago Contreras  
Lisveth Flores Del Pino  
Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

**COMITÉ CONSULTIVO**

Dra. Angélica Baena Moncada  
Universidad Nacional de Ingeniería

Dr. Adolfo La Rosa Toro Gomez  
Universidad Nacional de Ingeniería

M.Sc. José G. Beretta Enciso  
Universidad Nacional de Ingeniería

Dra. Celina Luizar  
Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Olivio Nino Castro Mandujano  
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Dra. Ana Valderrama Negrón  
Universidad Nacional de Ingeniería

Dra. Yadira Fernandez Jerí  
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

**Revista indizada en el Chemical Abstracts, SciELO y Latindex**

Sede: Av. Nicolás de Aranibar 696 Santa Beatriz – Lima 01

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

Teléfono (511) 960 189 928

e-mail: [sqperu@gmail.com](mailto:sqperu@gmail.com)

Portal web: [www.sqperu.org.pe](http://www.sqperu.org.pe)

Ley 26905 – Hecho el depósito legal a la Biblioteca Nacional del Perú

Certificado N 95-1567

---

**Vol 89**

**OCTUBRE - DICIEMBRE 2023**

**N° 4**

En el Perú: N° suelto S/ 15

Suscripción anual: S/ 60.00

En el extranjero suscripción anual: US \$ 50



**SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**  
**CONSEJO DIRECTIVO**  
**(marzo 2022 – marzo 2024)**

<b>Presidente</b>	: Dra. Santos Haydeé Chávez Orellana
<b>Tesorera</b>	: Dra. Ana Lucy Siccha Macassi
<b>Secretario</b>	: Mg. Mario Antonio Bolarte Arteaga
<b>Director Administrativo</b>	: Mg. Helmer Helí Lezama Vigo
<b>Vocales</b>	: Q.F. Gabriela Soriano Chávez Mg. Norma Amparo Cuizano Vargas Mg. Fernando Carlos Carrasco Solís Dra. Magali Camila Vivas Cuéllar Dra. Mercedes Puca Pacheco MSc. Christian Ronald Jacinto Hernández

**Comisión de Economía y Finanzas**  
Presidenta: Dra. Ana María Osorio Anaya

**Comisión de Publicaciones**  
Presidenta: Dra. Ana Cecilia Valderrama Negrón

**Comisión de Actuaciones Científicas**  
Presidente: Mg. Fernando Carrasco Solís

**INSTITUCIONES Y EMPRESAS PROTECTORAS DE LA**  
**SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**



## CONTENIDO

(Vol. 89 – N° 4 – 2023)

- Composición química, actividad antioxidante, antimicrobiana y antifúngica del aceite esencial de hojas y flores de *porophyllum ruderale* (jacq.) Cass. Subsp. *Macrocephalum* (dc.) R.r. Johnson “hierba de gallinazo” por Tito Segura Vilchez, Américo Castro Luna, Norma Ramos Cevallos, Mario Alcarraz Curi, Luis Inostroza Ruiz, Félix Castillo Morales. Págs. 266-280
- Parámetros de estructura electrónica y energía prohibida en aleación cristalina cinc blenda de InAs por César Cabrera Arista, German E. Pomachagua Peres, Salvador S. Trujillo Peres. Págs. 282-290
- Rápida purificación por HPLC del extracto acuoso farmacológicamente activo de las partes aéreas de *baccharis trimera* (LESS) DC por, Mirtes Midori Tanae, Ingrid Elida Collantes Díaz, Antonio José Lapa. Págs. 292-303
- Caracterización físico – química y capacidad antioxidante del extracto acuoso de los frutos de *caesalpinia spinosa* (molina) kuntze “TARA” por Jimmy Limaymanta Gonzales, Mónica Guadalupe Retuerto-Figueroa, Jossimar P. Tarazona Huamaní, Martha Francisca Cosquillo Rafael, Ursula Villafuerte-Montes, Eva Ramos Llica. Págs. 304-312
- Informaciones

---

Revista Arbitrada

**Derechos reservados:** Prohibido el uso total o parcial del material de esta revista sin indicar la fuente de origen.

**Nota:** Las referencias comerciales que aparecen en los trabajos no constituyen una recomendación de la Sociedad Química del Perú.

## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

La Revista de la Sociedad Química del Perú publica trabajos originales e inéditos de carácter científico, tecnológico y técnico en el campo de las ciencias químicas. La Revista acepta preferentemente los trabajos que expresen resultados valiosos, producto de las investigaciones científicas básicas o aplicadas, así como, los de divulgación que, por su importancia y la claridad de su exposición, constituyan un material valioso para la comunidad científica y tecnológica.

La Revista, en formato impreso o electrónico, está dividida en las siguientes secciones: artículos de investigación, comunicaciones cortas, cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y divulgación.

Los trabajos son recibidos por el Comité Editorial, quien revisará cumplan con las “Instrucciones para los autores”, la ortografía y redacción (incluida la puntuación). A continuación, pasa a la Comisión de Publicaciones y Árbitros para que se pronuncien sobre el contenido científico. Si existen observaciones se comunicará al autor corresponsal para que se proceda a levantar dichas observaciones.

**Los artículos de investigación** son el resultado de un trabajo experimental o teórico, producto de una investigación científica o tecnológica, que aporta un nuevo conocimiento. Se recomienda una extensión entre 10 a 15 páginas a espacio y medio.

**Las comunicaciones cortas** son trabajos cuya extensión no debe ser mayor a 4 páginas a espacio simple, escritas bajo las mismas características que un artículo de investigación. Están referidos a trabajos cortos concluidos, pero en los que hay urgencia en su publicación.

**Las cartas al editor** son comunicaciones que brindan la oportunidad para discutir, criticar o ampliar algunos puntos sobre los trabajos publicados en la Revista. Su extensión no debe exceder una hoja a espacio simple.

**Los trabajos de revisión** se basan en recopilaciones bibliográficas de temas en los que el autor tiene amplia experiencia. La Comisión de Publicaciones encomendará estos trabajos a especialistas en la materia.

**Los artículos de enseñanza de la química** son aquellos que proporcionan, en especial a los profesores y alumnos, una nueva visión, interpretación o aclaran los conceptos, teorías o experimentos químicos. Los requisitos que deben tener son: originalidad, importancia pedagógica, relevancia y claridad.

**Las notas informativas** corresponden a temas que no están relacionados a una investigación, pero son artículos que merecen ser divulgados, por ser de gran interés para la comunidad química.

Los autores de los trabajos publicados son los únicos responsables de la autenticidad y opiniones expresadas en los mismos. Todos los autores de un artículo deberán firmar una carta de presentación del trabajo como garantía de haber participado activamente en la investigación y redacción del artículo. Todas las comunicaciones entre la Comisión de Publicaciones y el autor corresponsal se realizarán vía correo electrónico. El autor corresponsal deberá responder los correos electrónicos en el plazo que se señale.

Los autores enviarán sus artículos al correo electrónico [revsqperu@gmail.com](mailto:revsqperu@gmail.com) a la Comisión de Publicaciones, junto con una carta dirigida al editor y abonarán 30 soles (autores nacionales) ó 30 dólares (autores extranjeros) por concepto de gastos administrativos (por revisión del artículo), como adelanto del pago de la publicación, no reembolsables.

La publicación de cada trabajo está sujeta al pago de las siguientes sumas:

Cuando todos los autores son socios: S/ 120.00

Cuando todos los autores no son socios: S/ 200.00

Si entre los autores hay socios y no socios: S/ 150.00

Si los autores residen en el extranjero US \$ 110.00

Cuando el número de autores es superior a 3 se añadirá, además, S/ 30.00 por cada autor en exceso.

Si el trabajo es enviado del extranjero, será US \$ 15.00 más por cada autor en exceso.



Por exceso de correcciones de estilo se cobrará después de la segunda, un mínimo de S/ 30.00.

The publication of each work is subject to payment of the following ones:

When all the authors are partners of the Peruvian Chemical Society: S/ 120.00

When all the authors are not partners: S/ 200.00

If among the authors there are partners and non partners: S/ 150.00

If the authors reside abroad US \$ 110.00

When the number of authors is superior at 3 it will be paid, also, US \$ 15.00 for each author in excess.

### **Formato para los artículos**

Baje la plantilla de artículo. Los autores pueden solicitar la plantilla de artículo al correo electrónico [revsqp@gmail.com](mailto:revsqp@gmail.com)

El texto completo, debe ser escrito en formato Microsoft Word, tamaño de página A4. Márgenes; izquierdo 3 cm, derecho 3 cm, superior 3 cm, inferior 3 cm. Espacio 1 1/2, fuente Times New Roman, estilo de fuente regular (salvo indicación contraria), color de fuente negro (texto y gráficos) y tamaño de fuente 12. Se imprimirá de manera vertical. Todo el texto, excepto el título, debe estar alineado a la derecha y a la izquierda (usar la opción "justificar"). Los decimales deben llevar coma.

Los idiomas de publicación son español e inglés.

El título del trabajo, que debe ser **breve y claro**, en español y en inglés (este último antes del abstract) se escribe con tamaño de fuente 16, centrado y en negritas. Los nombres completos de los autores aparecerán a continuación con tamaño de fuente 12, el autor corresponsal se identificará con un asterisco. Las instituciones de la cual proceden los autores se escriben con tamaño de fuente 10 e irán a pie de página, donde también sólo el autor corresponsal colocará su correo electrónico después de la dirección postal completa de su institución.

Se presentarán dos resúmenes, uno en español y otro en inglés (Abstract), con una extensión aproximada entre 50 y 200 palabras. Las palabras Resumen y Abstract se escriben con tamaño de fuente 14, centrado y en negrita. Además, después del Resumen se deberá incluir entre 3 y 6 palabras clave, en español. Tanto Palabras clave como Key words se escriben a la izquierda del texto, con tamaño de fuente 12 y en negrita.).

Deberá respetarse las normas internacionales referentes a la nomenclatura, símbolos y sistemas de medida. Los nombres científicos de género y especie van en cursiva (itálica).

El caso de artículos originales y comunicaciones cortas, el texto debe contener las siguientes secciones: Introducción, Parte Experimental, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias. Éstas se escriben con tamaño de fuente 14, en negritas y centradas. Las cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y notas informativas, tendrán las secciones que el autor crea más conveniente.

Las tablas, figuras y esquemas, que no deben ser mayores que una página A4, tienen numeración arábiga seguido de punto. A continuación, se coloca la leyenda que explique su significado. La numeración y leyenda en una tabla, cuyo formato debe ser básico 1, se colocan en la parte superior a diferencia de las figuras y los esquemas que se ubican en la parte inferior. Las figuras deben ser originales y de alta resolución.

Las tablas, fotos, figuras y esquemas deben estar incluidos en el documento de Microsoft Word.

Las referencias, se citan en el texto correlativamente como superíndice. El número de estas referencias no debe ser excesivo. Deberían fluctuar entre 7 y 15. La sección Referencias se escribe con tamaño de fuente 14, centrado y **en negrita**. Las abreviaturas de las revistas se escribirán según el Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) y List of Journals Indexed in Index Medicus, (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html>) Las referencias citadas se escribirán con el tamaño de fuente 10 y se seguirá el estilo de Vancouver.

# COMPOSICIÓN QUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA Y ANTIFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y FLORES DE *POROPHYLLUM RUDERALE* (JACQ.) CASS. SUBSP. *MACROCEPHALUM* (DC.) R.R. JOHNSON “HIERBA DE GALLINAZO”

Tito Segura Vilchez<sup>\*a</sup>, Américo Castro Luna<sup>b</sup>, Norma Ramos Cevallos<sup>b</sup>, Mario Alcarraz Curi<sup>c</sup>, Luis Inostroza Ruiz<sup>b</sup>, Felix Castillo Morales<sup>b</sup>

## RESUMEN

Se analizó la composición química, actividad antioxidante, antimicrobiana y antifúngica del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson originaria de las provincias de Jaén y San Ignacio en Cajamarca. Los compuestos químicos de mayor concentración detectados mediante un análisis de Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) en el aceite esencial fueron D-Limoneno (62,85%), 1-Undeceno (10,20%) y Cariofileno (5,08%). Se realizaron los métodos de actividad antioxidante por DPPH•, ABTS•+ y FRAP; mientras que la actividad antimicrobiana y antifúngica fueron realizados por el método por difusión en agar. Se obtuvo un TEAC de 3,0951 mg Trolox®/ g muestra por el método del radical libre DPPH•, un TEAC de 2,6942 mg Trolox®/ g muestra por el método del radical catiónico ABTS•+ y un AAEAC de 0,774 mg Ácido ascórbico/ g muestra por el método FRAP, lo cual indica que el aceite esencial no tiene una actividad antioxidante relevante. Además, se observó un halo de inhibición mínimo respecto a la actividad antimicrobiana para la cepa de *Streptococcus mutans* y no presento ningún halo de inhibición respecto a la actividad antifúngica. Se sabe que la subespecie *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson podría presentar cierta actividad antioxidante y antimicrobiana debido al D-limoneno en su composición química, sin embargo, esto no se pudo apreciar en el presente estudio.

**Palabras clave:** Composición química, antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, *Porophyllum ruderale macrocephalum*.

---

<sup>a</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Norbert Wiener, Jr. Larrabure y Unanue 110, Av. Arequipa 440, Lima 23, Perú, [seguravilchez@yahoo.es](mailto:seguravilchez@yahoo.es)

<sup>b</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Av. Miguel Grau 755, Lima 23, Perú.

<sup>c</sup> Departamento Académico de Microbiología Y Parasitología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Av. Germán Sede Central Jorge Basadre, Lima 15081, Perú.

**CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY  
OF ESSENTIAL OIL FROM LEAVES AND FLOWERS OF  
*POROPHYLLUM RUDERALE* (JACQ.) CASS. SUBSP.  
*MACROCEPHALUM* (DC.) R.R. JOHNSON “HIERBA DE  
GALLINAZO”**

**ABSTRACT**

The chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antifungal activity of the essential oil of leaves and flowers of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson from the provinces of Jaén and San Ignacio in Cajamarca were analyzed. The chemical compounds with the highest concentration detected using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) analysis in the essential oil were D-Limonene (62,85%), 1-Undecene (10,20%) and Caryophyllene (5,08%). Antioxidant activity methods were performed by DPPH•, ABTS•+ and FRAP; while antimicrobial and antifungal activity were performed by agar diffusion method. A TEAC of 3,0951 mg Trolox®/ g sample was obtained by the DPPH• free radical method, a TEAC of 2,6942 mg Trolox®/ g sample by the ABTS•+ cation radical method and an AAEAC of 0,774 mg Ascorbic acid/ g sample by the FRAP, indicating that the essential oil has no relevant antioxidant activity. In addition, a minimal inhibition halo was observed with respect to antimicrobial activity for the *Streptococcus mutans* strain and no inhibition halo was observed with respect to antifungal activity. It is known that the subspecies *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson could present some antioxidant and antimicrobial activity due to the D-limonene in its chemical composition, however, this could not be appreciated in the present study.

**Key words:** *Chemical composition, antioxidant, antimicrobial, antifungal, Porophyllum ruderale macrocephalum.*

**INTRODUCCIÓN**

El territorio peruano es reconocido por su gran riqueza vegetal, en donde cada especie posee diferentes propiedades como son las actividades terapéuticas, antioxidantes, antienvjecimientos y fotoprotectoras. Sin embargo, no todas las especies pertenecientes a este país se han estudiado más allá de su uso tradicional, por lo que, se hace necesario un mayor número de estudios para corroborar dichas actividades, ya sea mediante métodos in vitro e in vivo en el mejor de los casos. Dichos estudios se centran mayormente en la captación de radicales libres de ciertos compuestos químicos. Ya que las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden generar un estrés oxidativo en distintas estructuras intra y extracelulares. Pueden generar la carcinogénesis al reaccionar con las cadenas de ADN, produciendo mutaciones<sup>1</sup>. Diversas investigaciones sobre compuestos químicos en aceites esenciales han demostrado que los más comunes pertenecen a la familia de los triterpenoides y fenil-propánicas, las cuales se encuentran almacenadas en los tejidos secretores de vegetales aromáticos<sup>2,3</sup>. La *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass es una especie perteneciente a la familia Asteraceae, conocida comúnmente como “hierba del gallinazo”, dentro de su descripción etnobotánica encontramos que es una hierba

erecta de 1 m de altura y aromática con olor desagradable. Generalmente es empleada por sus propiedades depurativas y antiinflamatorias<sup>4</sup> Kouassi et al. (2020)<sup>5</sup> desarrollaron un estudio en donde evaluaron la composición química del aceite esencial de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson, el cual se obtuvo por destilación al vapor y analizados por Cromatografía de Gases acoplada a Espectroscopía de Masas, obteniéndose como resultado la identificación de monoterpenos (94,69 %), hidrocarburos aromáticos (4,39 %) y sesquiterpenos (0,27 %). Los compuestos mayoritarios son  $\beta$ -mirceno (35,52 %),  $\gamma$  terpineno (26,37 %),  $\beta$ -pineno (21,65 %), limoneno (9,26 %) y 1- undeceno (4,39 %). Así mismo, Villa (2018)<sup>6</sup>, en un estudio se propuso evaluar la composición química del aceite esencial de las hojas frescas de *Porophyllum ruderale* subsp *macrocephalum* y hojas secas de *Porophyllum tagetoides*. La obtención de los aceites esenciales se realizó por el método de hidrodestilación según el sistema Clevenger. La evaluación de la composición química de los aceites esenciales se llevó a cabo mediante cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas con un detector de HP 5973 (GC-MS). En el AE de las hojas frescas de *Porophyllum ruderale* se encontraron 11 compuestos y de las hojas secas de *Porophyllum ruderale* se encontraron 13 compuestos. El 72,72% de los compuestos correspondió a hidrocarburos, el 18,18% a hidrocarburos cíclicos, el 9,09% a diterpenos y el 0,01% restante estuvo compuesto por metabolitos traza. Conde et al. (2014)<sup>7</sup>, desarrollaron un estudio donde evaluaron la actividad antioxidante de las hojas de *Porophyllum ruderale* empleando la metodología de ABTS, utilizaron un sistema de extracción con agitación o ultrasonido con cinco tipos de solventes (agua, etanol 50:50% v/v :agua, 70:30 % v/v de etanol:agua, 85:15 % v/v de etanol: 1,5 N HCl y etanol) , obteniendo como resultado que las hojas de *Porophyllum ruderale* contienen de 4,88–64,99 mg de T/g d.s., tales resultados dependen del tipo de sistema de extracción, así como el tipo de solvente, por lo que el estudio concluye que la mayor cantidad de actividad antioxidante se observó en el extracto de etanol al 70% de P. ruderale fresco obtenido por agitación. Además, se evaluó la capacidad antioxidante del aceite esencial de hojas frescas de *Porophyllum ruderale* subsp *macrocephalum* y secas de *Porophyllum tagetoides*. La evaluación de la capacidad antioxidante fue mediante los métodos ABTS y DPPH. Los resultados muestran que el aceite esencial de hojas de *Porophyllum ruderale* posee un 71,31% de inhibición del radical ABTS y 14% de inhibición del radical DPPH, obteniendo así mayor capacidad antioxidante que el obtenido por el aceite esencial de las hojas secas de *Porophyllum tagetoides*. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar los compuestos químicos presentes en el aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson, evaluar su actividad antioxidante y anti-Candida albicans.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Colecta y tratamiento de las muestras

Las hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson se obtuvieron de las provincias de Jaén y San Ignacio; en la Región Cajamarca; ubicadas al norte de la región. La colecta se realizó durante el mes de setiembre del año 2022. Las hojas y flores se colocaron directamente al aire libre con exposición directa a la luz solar. Posteriormente se realizó la certificación de clasificación taxonómica.

### Obtención del aceite esencial

Se realizó la obtención del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson mediante un destilador por arrastre por vapor de agua semiindustrial de acero inoxidable. Cada arrastre fue de 6 Kg y se trabajó con 18 Kg de materia vegetal seca. Luego, se caracterizó al aceite esencial calculando su densidad relativa mediante un picnómetro y el pH fue medido con un potenciómetro electrónico.

### Determinación de la composición química

Se determinó la composición química del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson mediante el método de Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) de Inyección líquida, el modelo del equipo fue SHIMADZU GC-2010 PLUS. Se utilizó una columna cromatográfica de 30m x 0,25mm x 0,25µm a una temperatura de 25°C. Por otro lado, el caudal utilizado fue de 0,2 ml/min, el volumen de inyección fue 5µl<sup>8</sup>. Posteriormente, se realizó la identificación de los compuestos químicos volátiles de la muestra, se comparó los tiempos de retención y los datos espectrales con la librería NIST 2014<sup>9</sup>.

### Determinación de la actividad antioxidante in vitro por el método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrihidrazil (DPPH•)

La actividad antioxidante por el método DPPH• se realizó según Brand et al.<sup>10</sup>, se preparó la solución stock de DPPH• a una concentración de 0,4mg/ml en metanol y se almacenó en un frasco color ámbar en refrigeración. Posterior a ello, se preparó la solución de trabajo con 2ml de solución stock y 25ml de metanol, todo esto en un frasco ámbar para evitar la foto reducción. Luego, se realizaron diversas diluciones de concentración en un rango de 3mg/ml y 15mg/ml del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson y se le añadió 800µl de solución de trabajo e DPPH•, se usó un blanco y como estándar se usó Trolox® en un rango de concentraciones de 0,4µg/ml y 5µg/ml. Finalmente, se dejó reposar las soluciones en oscuridad plena por 30 minutos y se procedió a leer en un espectrofotómetro Thermo Scientific, GENESYS 10S UV-VIS a una longitud de onda de 517nm.

Los resultados finales del método se expresaron en IC50 (Porcentaje de inhibición del 50% de radicales libres DPPH•) (11):

$$\% \text{Inhibición} = (\text{Abs.Control} - \text{Abs.Muestra}) / (\text{Abs.Control}) \times 100$$

Y en TEAC (Capacidad antioxidante equivalente a µg EqTrolox/g muestra):

$$\text{TEAC} = \text{IC50} (\mu\text{g Trolox/ml}) / \text{IC50} (\text{mg muestra/ml})$$

### Determinación de la actividad antioxidante in vitro por el método de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3-etilbezotiazolin)- 6-sulfónico (ABTS•+)

La actividad antioxidante por el método ABTS•+ se realizó por el método modificado de Re et al.<sup>12</sup>, para esto, se diluyó el catión ABTS•+ con agua destilada a una concentración de 3,84 g/L obteniendo así la solución madre. El radical libre se formó al hacer reaccionar la solución madre con 662,38 mg/L de persulfato de potasio evitando la exposición con la luz. Se diluyó esta última con agua destilada hasta obtener una absorbancia de 0,7 a

una longitud de onda de 734nm. Posterior a ello, si diluyó el aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson con dimetilsulfoxido en un rango de concentraciones de 0,3mg/ml y 3mg/ml con 980µl de solución de trabajo, se comparó con un blanco y su estándar fue Trolox® en un rango de concentraciones de 50µg/ml y 400µg/ml. Finalmente, se dejó reposar las soluciones en oscuridad plena por 7 minutos y se procedió a leer en un espectrofotómetro Thermo Scientific, GENESYS 10S UV-VIS a una longitud de onda de 734nm.

Los resultados finales del método se expresaron en IC50 (Porcentaje de inhibición del 50% de radicales libres DPPH•):

$$\% \text{Inhibición} = (\text{Abs.Control} - \text{Abs.Muestra}) / (\text{Abs.Control}) \times 100$$

Y en TEAC (Capacidad antioxidante equivalente a µg EqTrolox/g muestra):

$$\text{TEAC} = \text{IC50} (\mu\text{g Trolox/ml}) / \text{IC50} (\text{mg muestra/ml})$$

### **Determinación de la actividad antioxidante in vitro por el método del poder antioxidante de reducción férrica (FRAP)**

La actividad antioxidante mediante la capacidad para reducir el hierro férrico presente en un complejo con la 2,4,6 - tri (2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la formación ferrosa se realizó por el método según Benzie et al.<sup>13</sup>, el reactivo FRAP se preparó con amortiguador de acetato al 0,3M, pH 3,6; con una solución de Tris a 10mM (2-pyridyl)-s-triazina (TPTZ) en HCl al 40 mM; y FeCl<sub>3</sub> al 20 mM, en una proporción 10:1:1. Seguidamente, se preparó la solución madre de 2 mg/mL de muestra, en base a ello se realizó diluciones a partir de 1 mg/ml hasta 6 mg/ml. En este caso, se usó ácido ascórbico como estándar por lo que la curva de calibración en concentraciones de 5 µmol/L a 20 µmol/L. Por último, se colocaron en un tubo de ensayo 50µL de la muestra problema y 950µL de la solución de trabajo de FRAP, luego se agitó y se dejó en reposo en un ambiente oscuro por 15 minutos, posteriormente se midió la lectura de absorbancias a 593 nm.

Los resultados finales del método se expresaron en AAEAC (capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico) el cual será medido en mg de ácido ascórbico/g de muestra o µmol ácido ascórbico/g muestra<sup>14</sup>.

### **Determinación de la actividad antimicrobiana y antifúngica**

Se evaluó el potencial antimicrobiano del aceite esencial extraído de las hojas de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson contra las bacterias: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus oralis* (ATCC 6249) y las levaduras: *Candida Albicans* (ATCC 14053) *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763). Las condiciones de incubación fueron 30°C para las levaduras y 37°C para bacterias ambas a 160 RPM. Las suspensiones microbianas obtenidas se estandarizaron a una D.O. de 0.8 en espectrofotómetro para cada cepa. Para evaluar el potencial antimicrobiano de este aceite esencial se prepararon soluciones con concentraciones de 100, 50, 25, 12.5 mg/mL. Siguiendo la metodología de Rojas, et al. (2020)<sup>15</sup>, el ensayo se realizó a través de la difusión en pozos. Inicialmente haciendo uso de un hisopo estéril se cultivó cada bacteria y levadura en el medio que correspondiera, luego con un sacabocado estéril se realizaron pocillos (6 mm), en cada uno de estos pozos se depositaron 80 uL del aceite

esencial disuelto con Dimetil Sulfoxido (DMSO). Finalmente, las condiciones de incubación fueron las mismas durante todo el proceso. La lectura de este ensayo se realizó luego del periodo de incubación midiendo cada halo de inhibición alrededor de los pocillos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Obtención del aceite esencial

Las características generales del aceite se pueden apreciar en la tabla 1.



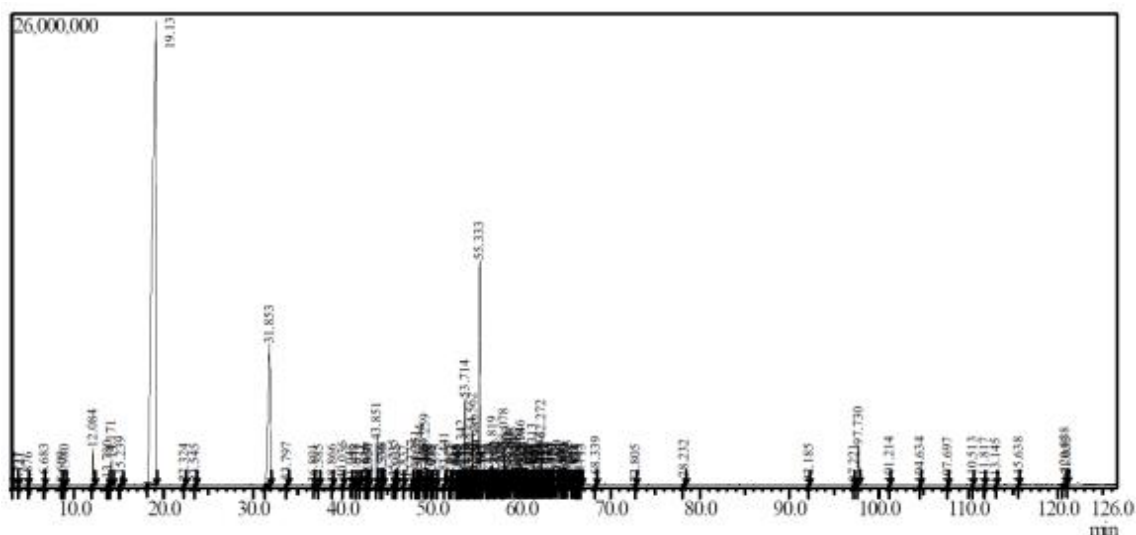
**Figura 1.** Hojas y flores secas de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson.

**Tabla 1.** Características del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.

Constantes	Valores
Rendimiento en seco	0,02 % v/p
Densidad	0,941 g/ml
pH	4,5

### Determinación de la composición química

El análisis cromatográfico de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) indicó como compuestos fitoquímicos volátiles de mayor área del cromatograma: D-Limoneno (62,85%), 1-Undeceno (10,20%) y Caryofileno (5,08%).



**Figura 2.** Cromatograma de los compuestos volátiles del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson de 0 a 126 minutos.

**Tabla 2.** Datos cromatográficos de los compuestos químicos mayoritarios del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson

Pico #	Tiempo de retención (min.)	% área	Nombre
7	12,084	1,13	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-
9	14,171	1,00	.beta.-Myrcene
11	19,131	62,85	D-Limonene
14	31,853	10,20	1-Undecene
26	43,851	0,99	Decanal
36	49,259	0,77	2-Docecenal, (E)-
50	53,714	1,80	(1R,3aS,5aS,8aR)-1,3a,4,5a-Tetramethyl-1,2,3,3a,5a,6,7,8
55	54,562	1,07	(1R,3aS,5aS,8aR)-1,3a,5a-Trimethyl-4-methylenedecahyd
59	55,333	5,08	Caryphyllene
65	56,819	0,83	Humulene
71	58,078	0,72	Germacrene D
95	62,272	1,07	Caryphyllene oxide
121	97,730	0,93	Neophytadiene
129	120,838	0,75	.gamma.-Sitosterol
	Total	89,19	



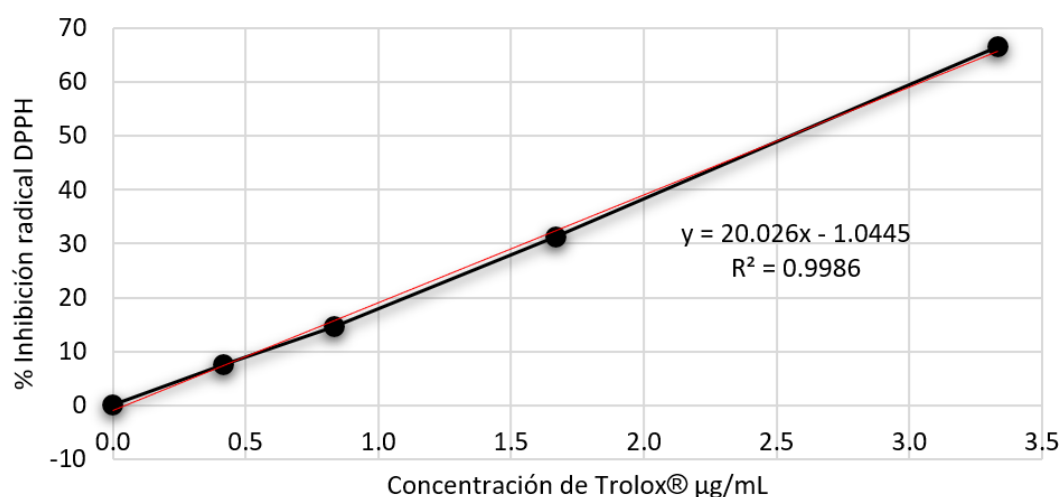
Específicamente en la planta *Porophyllum ruderale*, autores como Rondón *et al.* (16) (2008) han descrito los componentes presentes en el aceite esencial de esta planta siendo estos principalmente D-limoneno, b-felandreno, sabineno, terpineol, etc. Estos compuestos se asemejan a los reportados por Vázquez *et al.* (2021)<sup>17</sup>, siendo el limoneno un terpeno caracterizado por ser un compuesto volátil capaz de producir una intoxicación neurotóxica en larvas de *Aedes aegypti*. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, colocando al limoneno como compuesto químico principal en el aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson.

### Determinación de la actividad antioxidante por el método de 2, 2- difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Se tomo 3ml de solución stock de DPPH• al 40% en metanol y se diluyo con 42 ml de metanol, presentando una absorbancia de 0,682.

**Tabla 3.** Captación de radical libre de DPPH• de Trolox®.

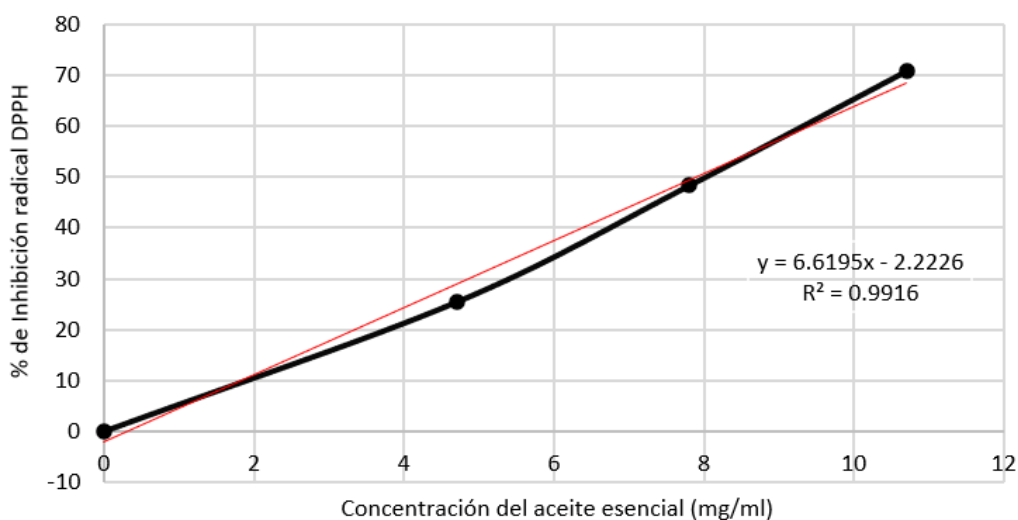
Concentración de Trolox® (µg/mL)	Absorbancia	Inhibición de DPPH•	IC50 (µg/mL)
0	0,4694	0 %	
0,42	0,4338	7,59 %	
0,83	0,4008	14,61 %	2,5489
1,67	0,3226	31,28 %	
3,33	0,1575	66,46 %	



**Figura 3.** Concentración de inhibición 50 (IC50) del Trolox® frente al radical DPPH•.

**Tabla 4.** Captación de radical libre de DPPH• del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson.

Concentración del aceite (mg/mL)	Absorbancia	Inhibición de DPPH•	IC50 (mg/mL)
0	0,4131	0 %	7,8892
4,70	0,3080	25,44 %	
7,80	0,2134	48,35 %	
10,70	0,1202	70,90 %	



**Figura 4.** Concentración de inhibición 50 (IC50) del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson frente al radical DPPH•.

$$\text{TEAC} = 3,0951 \text{ mg Trolox®/ g muestra}$$

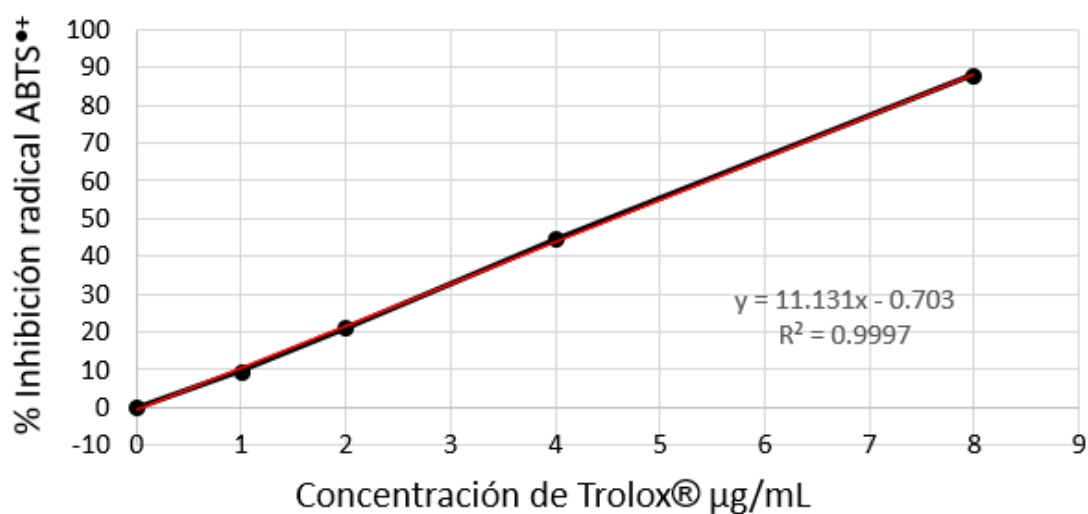
Según los resultados obtenidos por el método de captación del radical libre DPPH•, el aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson presenta un TEAC de 3,0951 mg Trolox®/ g muestra, este resultado indica una baja actividad antioxidante para sus compuestos químicos lipofílicos.

#### Determinación de la actividad antioxidante in vitro por el método de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3-etilbezotiazolin)- 6-sulfónico (ABTS•+)

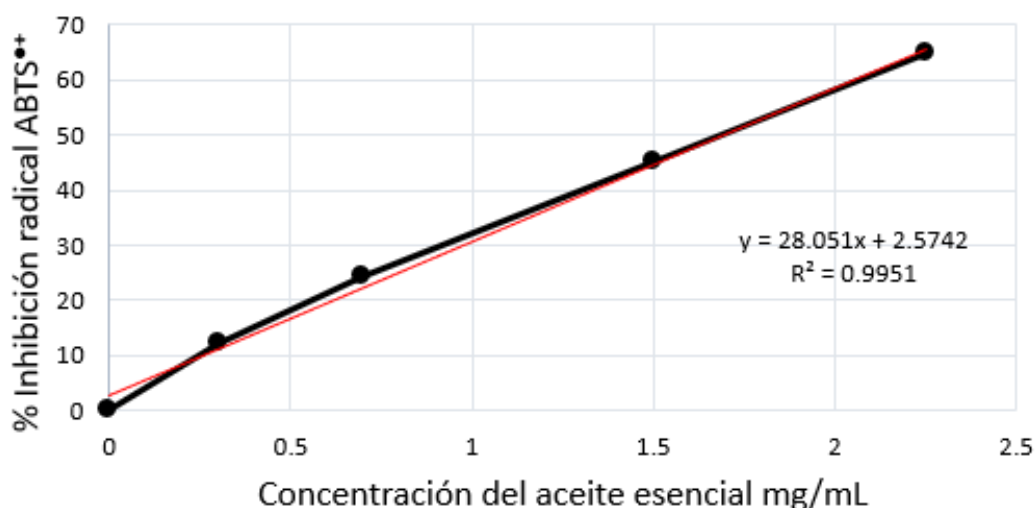
Se realizó una disolución de agua destilada del catión ABTS•+ y persulfato de potasio hasta obtener una absorbancia de 0,7 a una longitud de onda de 734nm.

**Tabla 5.** Captación de radical catiónico ABTS•+ de Trolox®.

Concentración de Trolox® (µg/mL)	Absorbancia	Inhibición de ABTS•+	IC50 (µg/mL)
0	0,6729	0 %	4,5551
50	0,6078	9,67 %	
100	0,5308	21,11 %	
200	0,3740	44,42 %	
400	0,0790	88,25 %	

**Figura 5.** Concentración de inhibición 50 (IC50) del Trolox® frente al radical ABTS•+.**Tabla 6.** Captación de radical catiónico ABTS•+ del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson.

Concentración del aceite (mg/mL)	Absorbancia	Inhibición de DPPH•	IC50 (mg/mL)
0	0,7029	0 %	1,6907
0,30	0,6165	12,30 %	
0,70	0,5333	24,13 %	
1,5	0,3866	45,00 %	
2,25	0,2483	64,68 %	



**Figura 6.** Concentración de inhibición 50 (IC50) del aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson frente al radical ABTS•+.

**TEAC = 2,6942 mg Trolox®/ g muestra**

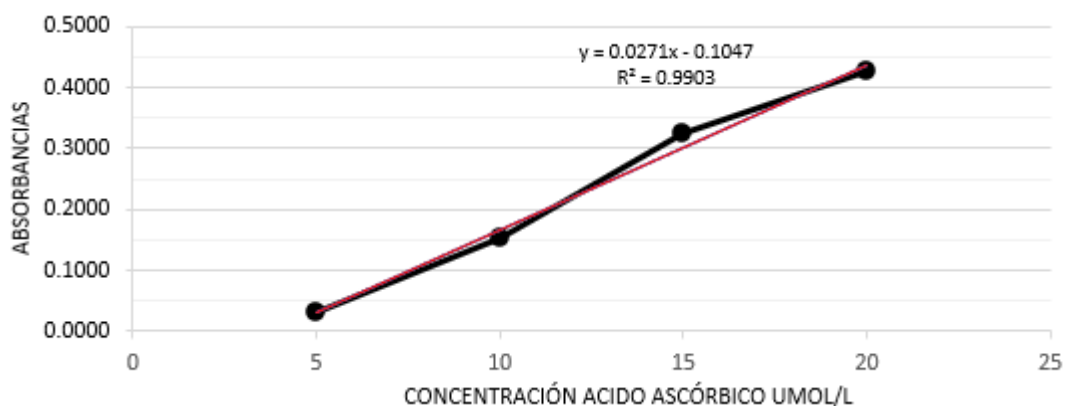
Según los resultados obtenidos por el método de captación del radical catiónico ABTS•+, el aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson presenta un TEAC de 2,6942 mg Trolox®/ g muestra, un valor aún más por debajo del obtenido por el método DPPH, todo esto indica que el aceite esencial presente una baja actividad antioxidante tanto para sus compuestos químicos lipofílicos e hidrofílicos.

#### **Determinación de la actividad antioxidante in vitro por el método del poder antioxidante de reducción férrica (FRAP)**

Se preparó la solución madre de reactivo FRAP a una concentración de 2mg/ml y se cuantifico la absorbancia del estándar ácido ascórbico y aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson.

**Tabla 7.** Poder reductor Férrico del estándar ácido ascórbico.

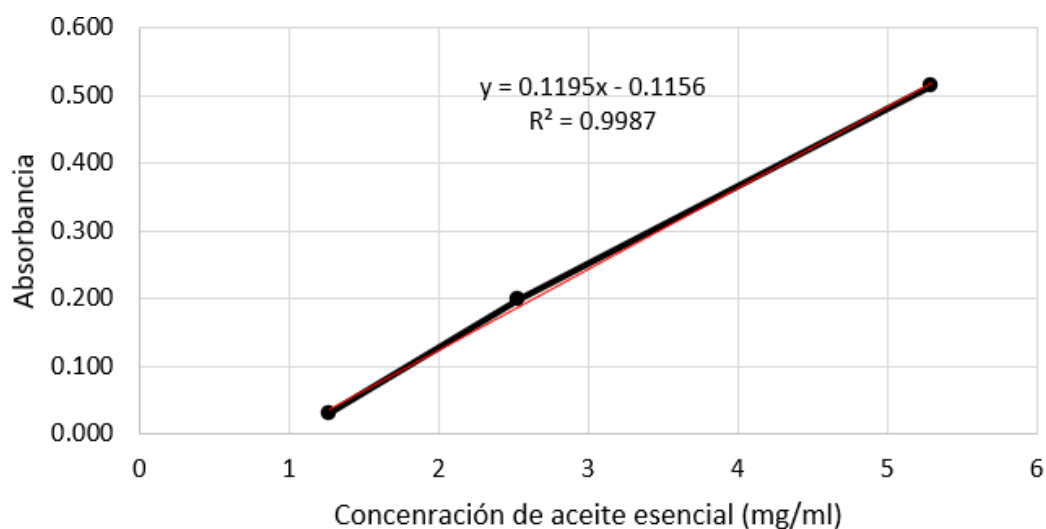
Concentración de ácido ascórbico (µmol/L)	Absorbancias			Promedio
	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	
5	0,036	0,029	0,028	0,0310
10	0,154	0,154	0,153	0,1537
15	0,326	0,324	0,328	0,3260
20	0,426	0,424	0,425	0,4250



**Figura 7.** Poder reductor férrico del Ácido ascórbico.

**Tabla 8.** Poder reductor Férrico del estándar ácido ascórbico.

Concentración de aceite esencial (mg/L)	Absorbancias			Promedio
	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	
1,27	0,03	0,029	0,029	0,029
2,54	0,2	0,198	0,196	0,198
5,3	0,496	0,52	0,528	0,515



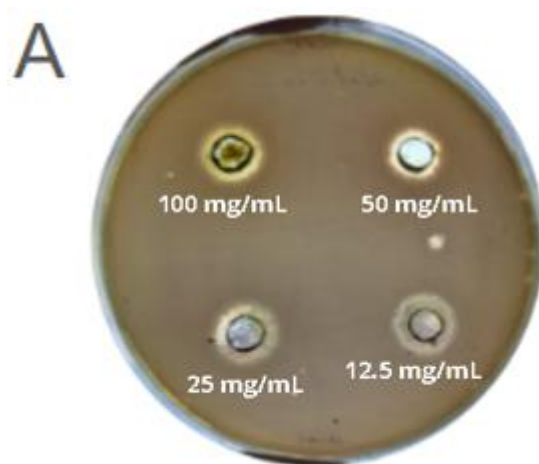
**Figura 8.** Poder reductor férrico del aceite esencial de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson.

$$\text{AAEAC} = 4,40 \mu\text{mol Ácido ascórbico/ g muestra}$$

Según los resultados obtenidos por el método de reducción férrica, el aceite esencial de hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson presentó un AAEAC de 0,774 mg Ácido ascórbico/ g muestra, este resultado indica una baja actividad antioxidante para sus compuestos químicos hidrofílicos.

### Determinación de la actividad antimicrobiana y antifúngica

Se identificó la inhibición del crecimiento de *S. mutans* a diferentes concentraciones. Obteniendo un resultado positivo, se midió el diámetro del halo de inhibición más el pocillo, los resultados se reportaron en milímetros (mm) restando el diámetro de los pocillos.



**Figura 9.** Resultados de los halos de inhibición del aceite esencial de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson sobre *S. mutans*.

**Tabla 9.** Resultados de los halos de inhibición para cada microorganismo enfrentado con el aceite esencial de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson.

Cepas	Aceite esencial de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass. subsp. <i>macrocephalum</i> (DC.) R.R. Johnson			
	100 mg/ml	50 mg/ml	25 mg/ml	12,5 mg/ml
<i>Streptococcus mutans</i>	03 mm	03 mm	03 mm	03 mm
<i>Streptococcus oralis</i>	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i>	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-
<i>Candida Albicans</i>	-	-	-	-

Actualmente, ciertos agentes microbianos como patógenos sean hongos o bacterias aquejan la salud pública de millones de personas en el mundo, sin embargo, la resistencia a los fármacos antimicrobianos representa una amenaza al tratamiento de estas infecciones. Por ende, el presente estudio evalúa el uso de metabolitos presentes en la medicina tradicional, entre ellos metabolitos antimicrobianos provenientes del aceite esencial extraído de *Porophyllum ruderale*. En nuestro estudio se reporta la inhibición del crecimiento de una bacteria Gram +, siendo esta *S. mutans*. Este resultado implica que en el aceite esencial se encuentran metabolitos antimicrobianos producidos por

*Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson, autores como Miletc *et al.* (18) (2022) demostraron una actividad antimicrobiana producida por extractos de plantas pertenecientes a la familia de las Asteráceas, principalmente contra patógenos como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, esto nos hace entender que los compuestos químicos de mayor potencial tienen una naturaleza polar, ya que estos tipos de extractos comúnmente son etanólicos, hidroalcohólicos o acuosos, mientras que con un aceite esencial se tiende a extraer compuestos más apolares.

## CONCLUSIONES

La composición química del aceite esencial extraído de las hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson realizada mediante un análisis GC-MS detectó la presencia D-Limoneno (62,85%), 1-Undeceno (10,20%) y Cariofileno (5,08%) como puestos de mayor concentración. Además, el aceite esencial extraído de las hojas y flores de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson no presentó actividad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP; del mismo modo en que no presentó actividad antifúngica y solamente una baja actividad antimicrobiana para la cepa de *Streptococcus mutans* por lo cual se considera no viable profundizar investigaciones en el aceite esencial del *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson.

## AGRADECIMIENTO

Al Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" y al Grupo de Investigación Recursos Naturales "RENATU" por brindar los laboratorios y equipos necesarios para realizar la presente investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García BL, García GL, Rojo DD, Sánchez GE. Plantas con propiedades antioxidantes. Rev Cubana Invest Biomed 2001; 20(3): 231-5.
2. Ruberto G, Baratta MT. Antioxidant activity of selected essential oil components. Food Chem. 2000; 69(2): 167-74.
3. Choi H, Song SH, Ukeda H, Sawamura M. Radical-Scavenging activities of Citrus essential oils and their components. J. Agric Food Chem 2000, 48: 4156-61.
4. Carmona A. Descripción taxonómica, morfológica y etnobotánica de 26 hierbas comunes que crecen en la ciudad de Mérida- Venezuela; 2008. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/712/71217219001.pdf>
5. Kouassi S., Kouame A., Mamyrbékova-Békro J., Bekro A. Composición Química Y Actividad Antimicrobiana de los aceites esenciales de *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cas. (Asterales; Asteraceae) cosechadas en Côte d'Ivoire. European Scientific Journal Edición de septiembre de 2020 Vol.16, No.27.

6. Villa AK. Composición química, actividad antioxidante y antigenotóxica de aceites esenciales de *Porophyllum ruderale* y *Porophyllum tagetoides*. [Tesis de maestría]. Chipalcingo, Guerrero: Universidad Autónoma de Guerrero; 2018
7. Conde-Hernández, L. A., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2014). Total phenolics and antioxidant activity of piper auritum and porophyllum ruderale. Food Chemistry. 2014; 142, 455–460. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.078>
8. Yi Y, Zhang QW, Li SL, Wang Y, Ye WC, Zhao J, et al. Simultaneous quantification of major flavonoids in “bawanghua”, the edible flower of *Hylocereus undatus* using pressurised liquid extraction and high performance liquid chromatography. FoodChem. 2012;135(2):528–33.
9. Liu Y, Zhang H, Wei S. Ultrasonic-assisted extraction of pigments from *Hylocereus undatus* flowers: Optimization, antioxidant activity, and HPLC analysis. RSC Adv.2015;5(58):46598–607.
10. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Sci Technol. 1995; 28: 559 – 562
11. Mesa-Vanegas AM, Zapata-Uribe S, Arana LM, Zapata IC, Monsalve Z, Rojano B. Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L.. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2015;14(1):1-10.
12. 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 - 1237.
13. Benzie F, Strain J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. In ANALYTICAL BIOCHEMISTRY. 1996; Vol. 239.
14. Mesa-Vanegas AM, Zapata-Uribe S, Arana LM, Zapata IC, Monsalve Z, Rojano B. Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat. 2015;14(1):1-10.
15. Rojas L, Gómez C, Martín N. (2020). Extraction of metabolites from *Calendula officinalis* and evaluation of their colorant and antibacterial capacity. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/journal/776/77664304007/html/>
16. Rondón M, Delgado J, Velasco J, Rojas J, Rojas L, Morales A, Carmona J. (2008). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from aerial parts of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. collected in Venezuela. Recuperado de: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9820/9807>
17. Vázquez M, Bautista M, Velázquez C, Castañeda A, González M, Sosa C, Ojeda D. (2021). *Porophyllum* Genus Compounds and Pharmacological Activities: A Review. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/2218-0532/89/1/7#B21-scipharm-89-00007>
18. Miletic M, Ivanov M, Novakovic J, Janackovic P. (2022). Antimicrobial activity of ethyl acetate extract of an endemic *Centaurea glaberrima* Tausch (Asteraceae). Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/366887557\\_Antimicrobial\\_activity\\_of\\_ethyl\\_acetate\\_extract\\_of\\_an\\_endemic\\_Centaurea\\_glaberrima\\_Tausch\\_Asteraceae](https://www.researchgate.net/publication/366887557_Antimicrobial_activity_of_ethyl_acetate_extract_of_an_endemic_Centaurea_glaberrima_Tausch_Asteraceae)





**MASED**  
REPRESENTACIONES SAC


# DESCUBRE LO QUE PODEMOS HACER POR TI

MASED REPRESENTACIONES SAC es una empresa dedicada a la comercialización de equipos e insumos de laboratorio, formada por profesionales con experiencia en las áreas de laboratorio.

Representamos a las mas prestigiosas marcas de equipos de laboratorio e insumos, todo lo que necesita para sus proyectos y equipamiento lo puede encontrar con nosotros.



 (511) 423 3900  976 838 048  961 900 112  /masedperu  /Mased\_representaciones

 Av. Universitaria Sur N° 1091-1097 – Lima  infoventas@masedperu.com  www.masedperu.com

# PARÁMETROS DE ESTRUCTURA ELECTRÓNICA Y ENERGÍA PROHIBIDA EN ALEACIÓN CRISTALINA CINC BLENDA DE InAs

César Cabrera Arista<sup>a</sup>, German E. Pomachagua Peres<sup>b</sup>, Salvador S. Trujillo Peres<sup>a</sup>

## RESUMEN

El uso de materiales semiconductores como la aleación de arseniuro de indio se incrementa en nuevas aplicaciones, debido a sus propiedades electrónicas y su gran potencial como material optoelectrónico. En el presente estudio se calcularon los parámetros de estructura electrónica y la brecha de energía prohibida del arseniuro de indio con estructura cristalina blenda de cinc. Se usó el método de los orbitales lineales *muffins tin* LMTO con un potencial LDA que emplea la aproximación de intercambio y correlación de un gas de electrones homogéneo de spin polarizado, para resolver la ecuación de Schrödinger de la red cristalina del InAs. Las bandas de energía, la densidad de estados y la energía total se calcularon para seis casos diferentes de una pequeña fracción de la carga electrónica de valencia en las esferas vacías de la diagonal en la red. La estructura electrónica presentó una brecha de energía prohibida de 0.408 eV asociada con la energía total mínima de  $-18.12$  Ry cercana a los resultados experimentales.

**Palabras clave:** Bandas de energía, orbitales lineales *muffins tin*, red blenda de cinc.

## PARAMETERS OF ELECTRONIC STRUCTURE AND FORBIDDEN ENERGY IN INAS ZINC BLENDE CRYSTALLINE ALLOY

### ABSTRACT

The use of semiconductor materials such as indium arsenide alloy is increasing in new applications, due to their electronic properties and great potential as an optoelectronic material. In the present study, the parameters of electronic structure and the energy-forbidden gap of indium arsenide with zinc blende crystal structure were calculated. The method of the linear muffins tin orbitals LMTO with an LDA potential using the exchange and correlation approximation of a homogeneous spin-polarized electron gas was used to solve the Schrödinger equation of the crystal lattice of the InAs. The energy bands, state density, and total energy were calculated for six different cases of a small fraction of the valence electron charge on the empty diagonal spheres in the lattice. The electronic structure had a forbidden energy gap of 0.408 eV associated with the minimum total energy of  $-18.12$  Ry close to the experimental results.

<sup>a</sup> Unidad de Investigación de Ingeniería Química UI-FIQ, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Callao, Av. Juan Pablo II s/n Bellavista, Callao, Perú. [ccabreraa@unac.edu.pe](mailto:ccabreraa@unac.edu.pe)

<sup>b</sup> Facultad de Ingeniería Mecánica y Energía, Universidad Nacional del Callao.

**Keywords:** Energy bands, linear orbitals, *muffins*, *tin*, zinc blende net.

## INTRODUCCIÓN

Con la acelerada evolución de la sociedad que se vive a nivel global, los implementos tecnológicos que respondan en forma eficiente y versátil a una necesidad específica, a incentivado el desarrollo de numerosas investigaciones en el campo de la física de los materiales. El objetivo de dichas investigaciones es obtener compuestos que brinden un rendimiento más eficaz que los que actualmente están vigentes en los diferentes ámbitos de la ciencia y la tecnología<sup>1</sup>.

Los compuestos de los grupos III-V de enlace covalente siempre han sido atractivos como objeto de estudio por sus potenciales aplicaciones, principalmente en los dispositivos electrónicos, como sensores, emisores de luz y foto detectores, entre otros elementos, que hoy constituyen la base de muchos dispositivos empleados en la electrónica moderna<sup>2</sup>. En este grupo se destacan las aleaciones de arseniuro de indio, el arseniuro de aluminio, el Arseniuro de Galio (GaAs) que por sus características tienen gran potencial de ser empleados, entre otros usos, en aplicaciones de radiometría y la construcción de celdas solares<sup>3</sup>. Los parámetros que caracterizan la estructura electrónica de las aleaciones y compuestos semiconductores como arseniuro de indio (InAs) aumentan su potencial como uno de los materiales electrónicos y optoelectrónicos de uso en nano estructuras, además de constituir también, una ventaja para comprender y analizar el transporte cuántico de materiales semiconductores a esta escala<sup>4</sup>.

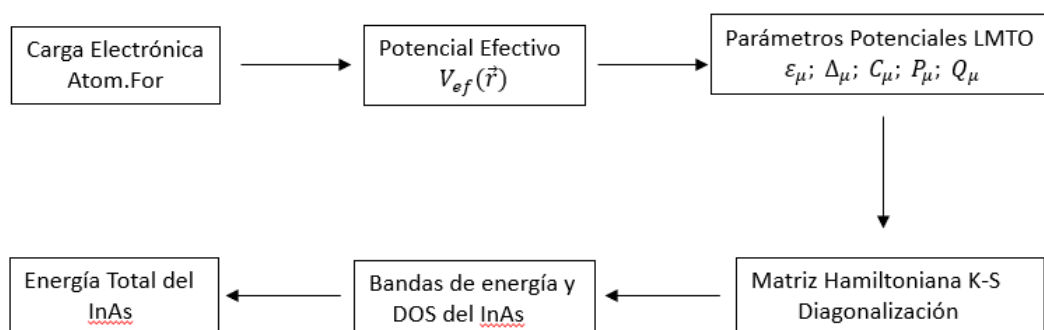
En un estudio de 2017 Mendoza-Estrada<sup>5</sup> reportó los parámetros de estructura electrónica del arseniuro de indio con una brecha prohibida de 0.28 eV en el punto  $\Gamma$  de alta simetría, alejado en un 35% del valor experimental, el modelo para el estudio empleo un funcional de Perdew-Burke-Emzerhof<sup>6</sup> y la aproximación del gradiente generalizado aumentado GGA en la formulación del pseudo potencial usado para resolver la ecuación de Schrödinger y obtener la estructura electrónica. Unos años antes en un artículo de 2013 Wang<sup>7</sup> con cálculos LMTO de primeros principios y usando un potencial de intercambio semilocal de Becke-Johnson en la formulación del potencial efectivo para determinar la estructura electrónica de aleaciones semiconductoras, la estructura de bandas de energía en las direcciones de alta simetría  $\Gamma$ , X, L de la red del compuesto InAs reportó una brecha de energía prohibida que difiere en 3.0 % del valor experimental. Por otro lado, con el uso de nuevos funcionales de energía de intercambio y correlación propuesto por Tran<sup>8</sup> en 2009, Wang efectuó cálculos de estructura electrónica y reportó parámetros de bandas de energía de la aleación InAs con una brecha de energía prohibida que difiere en 0.24% del valor experimental. Aunque existen otros métodos como la formulación GW de la auto energía de Hedin, que incluyen las fuertes interacciones de los primeros vecinos promediados en la primera zona de Brillouin, usado por Johnson<sup>9</sup> en 1998, éste reportó los parámetros de estructura electrónica de InAs con una brecha de energía prohibida que discrepa demasiado de los resultados obtenidos con los otros métodos ya mencionados.

El objetivo consiste en determinar los parámetros que caracterizan la estructura electrónica de la aleación InAs con fase cristalina blenda de cinc, usando el método LMTO<sup>10</sup> y las técnicas computacionales a nuestro alcance. Los parámetros de la estructura de bandas en las direcciones cristalográficas de alta simetría  $\Gamma$  - X,  $\Gamma$  - L y  $\Gamma$  - K, así como la brecha de energía prohibida se obtuvieron al resolver la ecuación de Schrödinger con un potencial efectivo en la aproximación LDA que incluye la

contribución de una fracción pequeña de la carga electrónica de valencia residiendo de manera uniforme dentro de las esferas vacías de la diagonal de la red. Este potencial efectivo fue formulado en el marco de la teoría del funcional de la densidad (DFT)<sup>11</sup> usando la aproximación de intercambio y correlación de un gas de electrones homogéneo de spin polarizado<sup>12</sup>, modelo empleado para el cálculo de la estructura electrónica del GaP y SiC en 2017 por Cabrera<sup>13</sup> reportando parámetros de estructura electrónica concordantes con resultados experimentales y que se presenta como una alternativa para el cálculo de la estructura de las bandas de energía de otros materiales semiconductores.

## PARTE METODOLÓGICA

La figura 1 resume la metodología desarrollada y en seguida se detalla en extenso cada una de las partes.



**Figura 1.** Resumen de la metodología

### Carga electrónica

La densidad de carga electrónica total y de valencia del átomo libre de Indio y Arsénico se obtiene del software libre ATOM.FOR de J. P. Desclaux<sup>14</sup> disponible en internet.

### Potencial Efectivo

Redistribuida la carga electrónica  $\rho(r)$  a las posiciones de las esferas atómicas, con una fracción pequeña  $q_{\vec{R}}$  residiendo homogéneamente en las esferas vacías de la red cristalina sin alterar la densidad del material, se calculó el potencial efectivo LDA<sup>10,13</sup>. Potencial que contiene toda la información acerca de la red cristalina y considera la aproximación de intercambio y correlación de un gas homogéneo de electrones de spin polarizado, escrito en unidades atómicas Rydberg tiene la forma:

$$V_{ef}(r) = -\frac{2Z}{r} + \frac{2}{r} \int_0^r 4\pi(r')^2 \rho(r') dr' + 2 \int_r^{R_w} \frac{4\pi(r')^2 \rho(r')}{r'} dr' + 2 V_{xc}(r) - \sum_{\vec{R}'} \sum_{\vec{T}}^4 \frac{2q_{\vec{R}'}}{|\vec{R} - \vec{R}' - \vec{T}|}$$

El último término a la derecha es la contribución al potencial efectivo, de la fracción pequeña  $q_R$  de la carga de valencia residiendo en las esferas vacías, cuya posición se denotan por  $\vec{R}$  y  $\vec{R}'$  en la celda unitaria y  $\vec{T}$  denota la posición de las otras esferas vacías de la red cristalina. Para el cálculo de este potencial se requiere el radio de las esferas atómicas y vacías de la red cristalina que se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1.** Parámetro de red de InAs y radio de las esferas atómicas R, en *a.u.*

$a$ (Å)	$R_{As}$	$R_{In}$	$R_{v1}$	$R_{v2}$
6.058	2.729	2.908	2.729	2.808

### Parámetros potenciales LMTO

Con el potencial efectivo se resolvió la ecuación de Schrödinger para conocer las funciones de onda parciales dentro de las esferas atómicas y en la región intersticial de la red. Los parámetros potenciales denotados con  $\varepsilon_\mu$ ;  $\Delta_\mu$ ;  $C_\mu$ ;  $P_\mu$ ;  $Q_\mu$  son los requeridos para cumplir la continuidad de la función de onda y su primera derivada energética en aquel punto correspondiente al radio de las esferas atómicas en la red cristalina, lo que permitió constituir la base de orbitales LMTO<sup>10</sup>.

### Matriz Hamiltoniana de K-S

Con la base de los orbitales LMTO, la ecuación de Kohn-Sham<sup>11,13</sup> (K-S) de un electrón que interacciona con el potencial efectivo de la red cristalina, se reescribe en forma de una matriz de 9x9 en el espacio de momento cristalino  $\vec{k}$ . Matriz que fue diagonalizada con técnicas computacionales que existen en la literatura (fortran o Matlab) para determinar los auto valores y auto vectores en las direcciones de alta simetría de la red cristalina.

### Bandas de Energía y la DOS

Los auto valores de la matriz de K-S, calculados para las direcciones de alta simetría de la red cristalina  $\Gamma - X$ ,  $\Gamma - L$  y  $\Gamma - K$ , constituyen la estructura de las bandas de energía  $\varepsilon(\vec{k})$ . La estructura electrónica fue calculada para diferentes valores de la fracción pequeña  $q_{\vec{R}}$  de carga electrónica de valencia residiendo en las esferas vacías de la red cristalina. Del análisis directo de la estructura de bandas se obtuvieron los parámetros de estructura electrónica para las direcciones de alta simetría, así como la brecha de energía prohibida y la densidad de estados ocupados (DOS) de la aleación de InAs.

### Energía total del InAs

La energía total<sup>10,11</sup> fue obtenida sumando la integral de los auto valores de energía hasta el último nivel de energía ocupado, la integral de interacción de Coulomb, la integral de energía de intercambio y correlación, más la pequeña contribución a la energía de las esferas cargadas con la fracción pequeña  $q_{\vec{R}}$  de la carga electrónica valencia<sup>13</sup>.

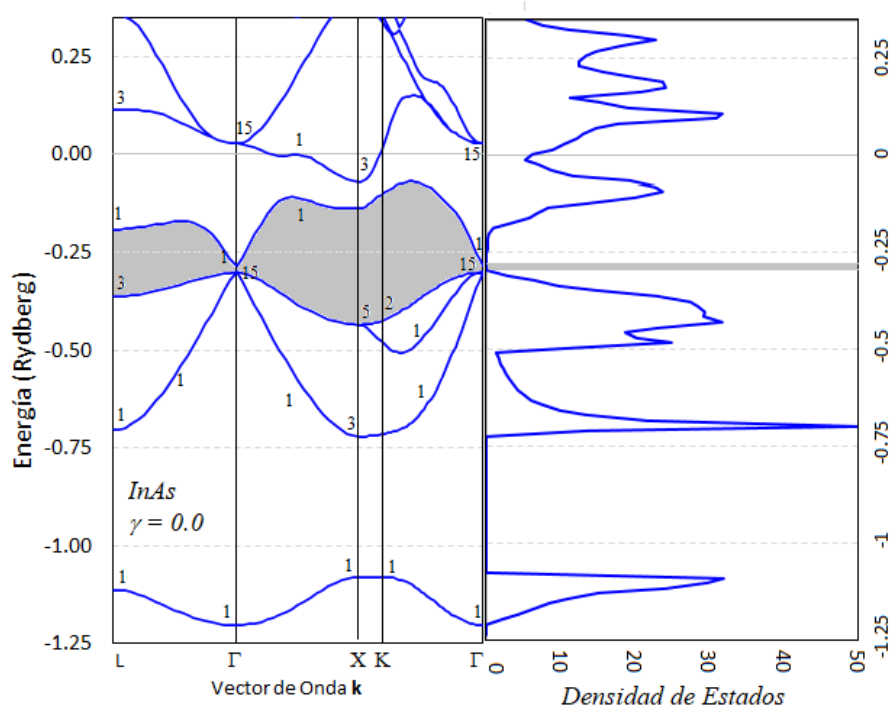
$$E_T = \sum_i^{occ} \varepsilon_i - \frac{1}{2} \int \int \frac{n(r)n(r')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}'^3 d\vec{r}^3 + E_{xc}[n(r)] - \int V_{xc}(r)n(r)dr^3 + \sum_{\vec{R}} q_{\vec{R}}V_{\vec{R}}$$

Esta energía total fue calculada para cada estructura de bandas de energía asociadas a la fracción pequeña  $q_{\vec{R}}$  de la carga electrónica de valencia en las esferas vacías de la red cristalina. Los parámetros de estructura electrónica de la aleación InAs fueron elegidos de aquella estructura de bandas de energía que minimizó la energía total.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Estructura electrónica del InAs

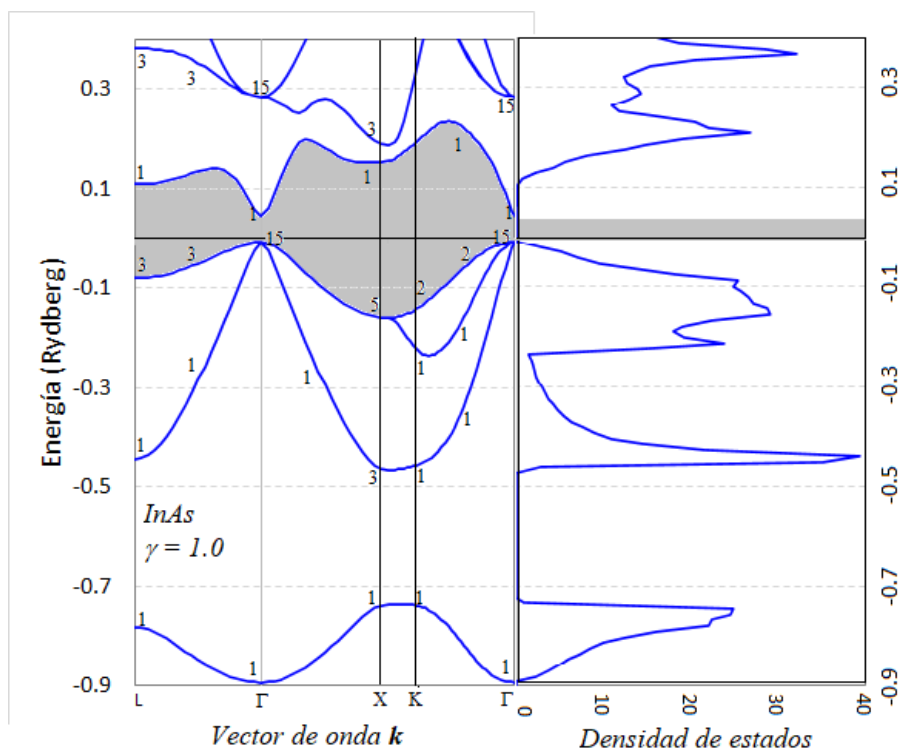
Se efectuaron los cálculos de las bandas de energía  $\epsilon = \epsilon(k)$  en las direcciones de alta simetría de la red cristalina  $\Gamma$ -L,  $\Gamma$ -X y  $\Gamma$ -K, también se calculó la densidad de estados asociada con las bandas de energía, ambos cálculos para diferentes fracciones de la pequeña carga de valencia que reside fuera de las esferas atómicas y distribuida de forma homogénea en las esferas vacías de la celda unitaria.



**Figura 2.** Bandas de energía de InAs, en unidades Ry, obtenida para toda la fracción pequeña  $q_{\vec{R}}$  en las esferas vacías de la red.

La estructura de bandas mostrada en la Figura 2, presenta una banda prohibida directa y estrecha en el punto  $\Gamma$  de alta simetría, en el que se ubica el fondo de la banda de conducción  $\Gamma_{1v}$  y el tope de la banda de valencia  $\Gamma_{15v}$  con una brecha directa de  $\Gamma_1 - \Gamma_{15} = 0.03$  Ry de energía prohibida, lo que equivale a unos 0.408 eV, valor que se ajusta bien

a lo obtenido con otros métodos, como el reportado por Wang<sup>7</sup> y cercano al valor experimental<sup>15</sup> 0.417 eV. El perfil de la densidad de estados calculada para este caso de estas bandas de energía, confirma la brecha de energía prohibida obtenida en la estructura de las bandas. Los resultados de la estructura de bandas obtenidas para un menor valor de  $q_R$  (80% a 20%) residiendo en las esferas vacías, presenta un ligero corrimiento de las bandas de valencia hacia valores de energía superior y asociadas con una menor brecha de energía prohibida directa entre los puntos  $\Gamma_{15}$  y  $\Gamma_1$ , que difiere poco del valor a la obtenida para el caso mostrado en la Figura 2. La densidad de estados asociada con esta estructura de bandas confirma el corrimiento y la banda prohibida.



**Figura 3:** Bandas de energía del InAS, en unidades Ry, obtenida con 0.0% de la fracción  $q_R$  de carga de valencia en las esferas vacías.

La Figura 3, muestra los resultados de la estructura electrónica obtenida con un apreciable corrimiento de las bandas de valencia hacia valores de energía superior, que presenta una brecha prohibida directa, también en el punto de alta simetría  $\Gamma$  y que difiere un 55.9 % del valor experimental. Valor que se aleja mucho de la brecha obtenida para el caso de toda la fracción pequeña  $q_R$  de carga electrónica de valencia residiendo en las esferas vacías de la red. A continuación, se presenta los parámetros de estructura electrónica de los puntos de alta simetría más representativos, todas obtenidas de la estructura de las bandas de energía que minimiza la energía total.

**Tabla 2:** Brecha prohibida  $\epsilon_g$  en los puntos de simetría  $\Gamma$ , X y L respecto al tope de la banda de valencia en el punto  $\Gamma$ ,  $\epsilon_L$  obtenida por Wang<sup>7</sup> (2013),  $\epsilon_e$  valor experimental, Vurgaftman<sup>15</sup> (2001).

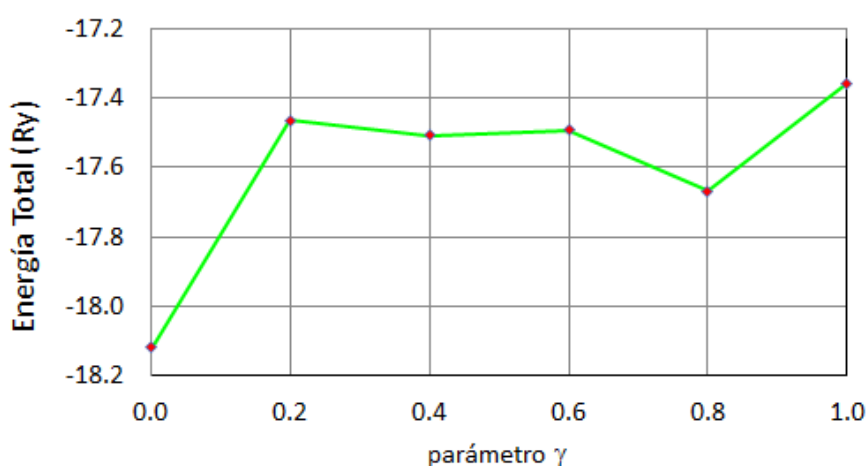
P.S.	$\epsilon_g(\text{Ry})$	$\epsilon_g(\text{eV})$	$\epsilon_L(\text{eV})$	$\epsilon_{ex}(\text{eV})$
$\Gamma$	<b>0.030</b>	<b>0.408</b>	<b>0.416</b>	<b>0.417</b>
<b>X</b>	<b>0.160</b>	<b>2.176</b>	<b>1.440</b>	<b>1.43</b>
<b>L</b>	<b>0.110</b>	<b>1.493</b>	<b>1.225</b>	<b>1.133</b>

La energía total  $E_T$  y la energía de Fermi  $E_F$ , fue calculada para cada una de las seis estructuras de bandas de energía, las que se presentan a continuación.

**Tabla 3:** La brecha de energía prohibida en unidades Ry y eV, la energía de Fermi, la energía total de la aleación InAs obtenidas con la base de orbitales LMTO aquí.

$\gamma$	$\epsilon_g(\text{Ry})$	$\epsilon_g(\text{eV})$	$E_F(\text{Ry})$	$E_T(\text{Ry})$
<b>0.0</b>	<b>0.030</b>	<b>0.408</b>	<b>-0.295</b>	<b>-18.12</b>
<b>0.2</b>	<b>0.028</b>	<b>0.380</b>	<b>-0.245</b>	<b>-17.47</b>
<b>0.4</b>	<b>0.027</b>	<b>0.370</b>	<b>-0.182</b>	<b>-17.51</b>
<b>0.6</b>	<b>0.025</b>	<b>0.340</b>	<b>-0.129</b>	<b>-17.49</b>
<b>0.8</b>	<b>0.026</b>	<b>0.354</b>	<b>-0.079</b>	<b>-17.67</b>
<b>1.0</b>	<b>0.048</b>	<b>0.653</b>	<b>-0.003</b>	<b>-17.36</b>

Como se puede apreciar en la tabla 3, los resultados muestran una brecha prohibida de 0.408 eV asociada a la estructura de las bandas de energía calculada para  $\gamma = 0.0$ , que se ajusta a 0.417 eV el valor experimental reportado por Vurgaftman (2001) y comparable a la energía prohibida de 0.416 eV reportado Wang (2013) obtenido con otro tipo de potencial de intercambio y correlación. El resultado de la banda prohibida discrepa mucho del valor 0.78 eV reportado por Johnson<sup>9</sup> (1998) y del valor 0.31 eV de banda prohibida reportada por remediakis<sup>16</sup> (1999).



**Figura 4:** Resultados de la energía Total en unidades Rydberg de la aleación InAs, calculadas con el modelo empleado en el presente estudio.



## CONCLUSIONES

El modelo de potencial efectivo LDA usado en la presente investigación, que toma en cuenta: la contribución de aquella fracción pequeña de la carga de valencia en las esferas vacías de la red, el potencial de intercambio y correlación de un gas homogéneo de electrones de spin polarizado resultó ser bueno para el cálculo de la estructura electrónica del InAs, que presentó una brecha directa de energía prohibida de 0.408 eV que se ajusta muy bien a la banda prohibida experimental<sup>15</sup> de 0.417 eV, ó la obtenida con otras aproximaciones, tal como la banda prohibida de 0.416 eV reportado por Wang<sup>7</sup> en 2013, ó al valor 0.28 eV reportado por Mendoza-Estrada<sup>5</sup> en 2017; o al valor 0.259 eV obtenido por Remediakis<sup>16</sup> en 1999. La energía total de 18.12 Ry asociada con la estructura electrónica que presentó una banda prohibida de 0.408 eV y calculada para el caso de toda la fracción pequeña de la carga de valencia en las esferas vacías de la red, resultó de valor mínimo. Para otros porcentajes de la fracción de la carga de valencia en las esferas vacías, la energía total resultó mayor aproximadamente en 0.8 Ry respecto de obtenida para primera estructura de bandas, con  $\gamma = 0.0$ . La figura 6 y la tabla 3, muestran con detalle los resultados de la energía total calculada para otras fracciones de la pequeña carga de valencia  $q_R$  en las esferas vacías de la red. Los resultados nos demuestran que la estructura electrónica: la estructura de bandas y la densidad de estados, obtenida para el 100 o/o de la fracción pequeña de la carga de valencia  $q_R$  en las esferas vacías, es la que resultó minimizar la energía total de la aleación InAs.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la unidad de investigación de la Facultad de ingeniería química de la UNAC por el apoyo económico. También se agradece al Dr. S. Trujillo y Mg. Pomachagua por sus aportes en la diagonalización de la matriz y por el análisis de las gráficas, respectivamente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Simón G, López W. First Principles calculations of structural and electronic properties of Arsenic compounds XAs (X=In, Al, Sc) Rev. Tumbaga 2011; (6): 173-189.
2. Ahmed, R., Javad, S., Hashemifar, Akbarzadeh, H., Ahmed, M., y Fazal-e-Alem. Ab initio study of structural and electronic properties of III-arsenide binary compounds. *Computational Materials Science*, (2007); 39, 580–586.
3. Barrera, M., Pla, J., y Rubinelli, F. Simulación numérica de celdas solares de GaAs. *Asades*, (2007); 11, (04): 93-99.
4. Torres-Jaramillo S. Structural and optical study of indium and gallium arsenide nanostructures prepared by magnetron sputtering, Univ. Sci. 24 (3): 523-542, 2019.
5. Mendoza-Estrada, V. et-all, (2017) Structural, elastic, electronic and thermal properties of InAs: A study of functional density Rev. Fac. Ing. Vol.26 46, 81-91.
6. Perdew, J., Burke, K. and Ernzerhof, M. (1996); Phys. Rev. Lett. 77, 3865.

7. Wang, Y., Haitao, Y., Cao, R., Zahid, F. and Guo, H. (2013). Electronic structure of III-V zinc-blende semiconductors from first principles, *Physical Review B*, Vol. 23, 87, 235203-1 235203-5.
8. Tran, F. and Blaha, P. (2009); *Physical Review Letters*. 102, 226401.
9. Johnson, K. and Ashcroft, N. (1998). Corrections to density functional theory band gaps *Physical review B*, 23, vol. 58, 15548 - 15556.
10. Skriver, H. (1984). *The LMTO Method: Muffin Tin Orbitals and Electronic Structure* Berlin, Germany, Springer-Verlag.
11. Kohn, W. (1999). Electronic structure of matter wave functions and density functionals *Rev. Mod. Phys.* 5, vol. 71, 1253-1266.
12. McLaren, J. (1991). Parameterized local spin density exchange-correlation energies and potentials for electronic structure calculations *Comp. Phys. Comms.* 66, 383-391.
13. Cabrera, C. and Poma, M. (2017). Estructura electrónica y energía total de los sistemas cristalinos de Ge, GaP y SiC, *Revista de investigación de Física*. Vol. 20, 2, 1-4.
14. J. P. Desclaux, (1973) Relativistic Dirac-Fock expectation values for atoms with  $Z=1$  to  $Z=120$ , *Atomic Data and Nuclear Data tables*. N° 4, Vol 12, 311-406.
15. Vurgaftman, I. and Meyer, J. (2001). Band parameters III-V semiconductors and their alloys *Physical Review B*, 11, vol. 89, 5815-5876.
16. Remediakis, I. and Kaxiras, E. (1999). Band structure calculation for semiconductors within generalized density functional theory, *Physical Review B*, Vol. 59, 8 5536 -



CPQ\_SILAE CONGRESO

"OLGA LOCK DE UGAZ"

Lima 16 - 20 de Octubre 2023

# 30° CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA

## 30°SILAE

### "OLGA LOCK DE UGAZ"

16 - 20 de Octubre 2023



[www.cpqsilae2023.it](http://www.cpqsilae2023.it)



LIMA - PERU



# RÁPIDA PURIFICACIÓN POR HPLC DEL EXTRACTO ACUOSO FARMACOLÓGICAMENTE ACTIVO DE LAS PARTES AÉREAS DE *BACCHARIS TRIMERA* (LESS) DC

Mirtes Midori Tanae<sup>a</sup>, Ingrit Elida Collantes Díaz<sup>b</sup>, Antonio José Lapa<sup>a</sup>

## RESUMEN

La *Baccharis trimera* es una planta de uso tradicional muy diseminado por todo el continente Sudamericano y el modo de uso más común es por infusión, es por ello que se aplicó el mismo método para la obtención del extracto acuoso de las partes aéreas de la planta. El extracto acuoso fue liofilizado y sometido a análisis por HPLC analítico y semipreparativo, éste último con el objetivo de aislar e identificar la máxima cantidad de componentes químicos en 30 minutos. Fueron identificados un total de 13 compuestos en 9 fracciones (F2-F10) y la identificación fue realizada por análisis de sus espectros de RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C y del espectro de masas por cromatografía líquida (CL) acoplado a espectrómetro de masas. Los metabolitos secundarios identificados en las fracciones fueron ácido 5-*O*-cafeoilquínico (F2), la mezcla de ácido 4-*O*-cafeoilquínico (F3-1) vicenina 2 (F3-2) e isocarlinosideo (F3-3), la mezcla de shaftosideo (F4-1) e isoshaftosideo (F4-2), ácido 3,5-*O*-dicafeoilshikímico (F5), ácido 1,5-*O*-dicafeoilquínico (F6), ácido 3,5-*O*-dicafeoilquínico (F7), la mezcla de guadichanolide B (F8-1) y el epímero de guadichanolide B (F8-2), 7 $\alpha$ -hidroxi-ent-cleroda-3-en-15,18-diácido-16,19-dilactona (F9) y eupatorina (F10).

**Palabras clave:** *Baccharis trimera*, ácido clorogénico, flavonoides, terpenos

## RAPID HPLC PURIFICATION OF THE PHARMACOLOGICALLY ACTIVE AQUEOUS EXTRACT OF THE AERIAL PARTS OF *BACCHARIS TRIMERA* (LESS) DC

### ABSTRACT

*Baccharis trimera* is a plant traditionally used throughout the South America. The most common use is by infusion, that is why the same method was applied to obtain the aqueous extract from the aerial parts of the plant. The aqueous extract thus obtained was freeze-dried and subjected to analytical and semi-preparative HPLC, the latter with the purpose of isolating and identifying the maximum number of chemical components in 30 minutes. A total of 13 compounds were identified in 9 fractions (F2-F10) and the

<sup>a</sup> Natural Products Section, Department of Pharmacology, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, 04044-020 São Paulo, SP, Brazil

<sup>b</sup> Facultad de Ingeniería Química y Textil, Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, Perú. icollantesd@uni.edu.pe

identification was performed by analysis of their NMR-<sup>1</sup>H, NMR-<sup>13</sup>C spectra and the mass spectrum by liquid chromatography coupled to mass spectrometer. The secondary metabolites identified were: 5-*O*-caffeoylquinic acid (**F2**), the mixture of 4-*O*-caffeoylquinic acid (**F3-1**), vicenin 2 (**F3-2**) and isocarlinoside (**F3-3**), the mixture of shaftoside (**F4-1**) and isoshaftoside (**F4-2**), 3,5-*O*-dicafeoylshikimic acid (**F5**), 1,5-*O*-dicafeoylquinic acid (**F6**), 3,5-*O*-dicafeoylquinic acid (**F7**), the mixture of guadichanolide B (**F8-1**), epimer of guadichanolide B (**F8-2**), 7 $\alpha$ -hydroxy-ent-clerode-3-en-15,18-diacid-16,19-dilactone (**F9**) and eupatorin (**F10**).

**Key words:** *Baccharis trimera*, chlorogenic acid, flavonoids, terpenes

## INTRODUCCIÓN

*Baccharis trimera* (Asteraceae) es una planta que ocurre en América del Sur, sus partes aéreas son muy usadas en medicina tradicional y es conocida por el nombre de carqueja<sup>1</sup>. Una revisión amplia de la bibliografía como la de Rabelo et al 2018 muestra que las partes aéreas de *B. trimera* son usadas popularmente para el tratamiento de malestares digestivos, infecciones genitourinarias, para adelgazar, para reducir el azúcar en sangre. Los estudios farmacológicos reportados, fueron sobre su actividad antioxidante, antiinflamatorio, protector gástrico, hepatoprotectivo, en la pérdida de peso, tripanosomicida, leishmanicida, antihelmíntica, antifúngica, antibacterial, antihemorrágica, antiviral, antiproliferativa y repelente. Debido a su amplio uso popular, los extractos acuosos, etanólico y tintura fueron sometidos a estudios sobre la toxicidad de *B. trimera*, Rabelo et al 2018 reportaron que el uso a bajas concentraciones puede considerarse seguro, pero no por ello se puede usar indiscriminadamente ya que en algunos casos puede presentar toxicidad y mutagenicidad. La mayoría de los estudios fitoquímicos fueron realizados con las partes aéreas, los cuales reportan la presencia de flavonoides como agliconas y glicosilados (*O*-glicosilado y *C*-glicosilado), terpenos como monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y triterpenos, saponinas, ácidos fenólicos y ácidos clorogénicos<sup>2</sup>.

En el presente trabajo, con la intención de identificar los metabolitos secundarios del extracto acuoso responsables de inducir hipotensión y el efecto gastrointestinal en animales no anestesiados<sup>3,4,5</sup>, el extracto acuoso fue fraccionado por cromatógrafo líquido (HPLC) semipreparativo y fueron obtenidos 9 fracciones. Para la identificación, las fracciones fueron analizadas por resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono 13, y el extracto acuoso fue analizado por cromatografía líquida acoplado a espectrómetro de masas. Fueron detectados ácido 5-*O*-cafeoilquinico (**F2**), la mezcla de ácido 4-*O*-cafeoilquinico (**F3-1**) vicenina 2 (**F3-2**) e isocarlinosideo (**F3-3**), la mezcla de shaftosideo (**F4-1**) e isoshaftosideo (**F4-2**), ácido 3,5-*O*-dicafeoilshikímico (**F5**), ácido 1,5-*O*-dicafeoilquinico (**F6**), ácido 3,5-*O*-dicafeoilquinico (**F7**), la mezcla de guadichanolide B (**F8-1**) epímero de guadichanolide B (**F8-2**), 7 $\alpha$ -hidroxi-ent-cleroda-3-en-15,18-diácido-16,19-dilactona (**F9**) y eupatorina (**F10**).

## PARTE EXPERIMENTAL

Los solventes para el análisis por HPLC, ácido trifluoroacético (TFA) y acetonitrilo (ACN) fueron de grado HPLC, Merck; el agua ultrapura fue obtenido por desionizador Nanopure® y el liofilizador de la marca Edwards.

### Preparación del extracto bruto

La *Baccharis trimera* fue cultivada en CPQBA-UNICAMP (Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas – Universidade Estadual de Campinas, Brasil). Tanto para los estudios farmacológicos como químicos fueron utilizadas las partes aéreas, secadas en una estufa a 40°C por 2 días y enseguida fue molida hasta obtener un tamaño de aproximadamente 1mm, el material seco y molido fue sometido a extracción con agua caliente (50 g/L, 72°C, 30 min), la infusión obtenida fue filtrada y el filtrado fue enfriado y congelado para ser sometido a liofilización y así obtener el extracto acuoso (EA). El EA fue sometido a análisis en HPLC analítico con la intención de tener la mayor cantidad de picos bien separados, para posteriormente ser fraccionado por HPLC semipreparativo.

### Condición cromatográfica del HPLC Analítico

El EA fue diluido a la concentración de 1 mg/mL del cual fue inyectado 20 µL. Fueron usados como solventes A: agua ácida al 0,1% (TFA) y B: agua/acetonitrilo 75%, para la separación de los picos fue usado un gradiente de 5% B hasta 95% B en un periodo de tiempo de 30 minutos a un flujo de 0.8 mL/min (Figura 1).

El HPLC analítico (Shimadzu® - Japan) consistió en 2 bombas LC-20AT, con detector espectrofotométrico UV-Vis (SPD-10A), módulo de comunicación (CBM-20A) operando por el programa Lab solution, versión 1,24 SP1. La separación fue realizada en una columna Shimpack ODS (5 µm x 250 x 4,6 mm).

### Condición cromatográfica del HPLC semipreparativo

Aproximadamente 3 g de EA fue fraccionado en el HPLC preparativo, cada inyección fue de 1 mL (100 mg/mL). Los solventes fueron A: agua ácida al 0,1% (TFA) y B: agua/acetonitrilo 75%, para la obtención de las fracciones fue usado un gradiente de 5% B hasta 95% B en un periodo de tiempo de 30 minutos a un flujo de 18 mL/min. Se obtuvo 10 fracciones y estas fueron sometidos a evaporación del ACN por rotaevaporador, la fase acuosa fue sometido a congelamiento para posteriormente ser sometidas a liofilización para la sublimación del agua.

El HPLC semipreparativo (Shimadzu® - Japan) consistió en 2 bombas (LC-8A), un detector espectrofotométrico UV-Vis (SPD-6A) operado a 220 nm, un controlador SCL-8A, un integrador CR-4A y un colector de fracciones FCV-100B. La separación fue realizada en una columna Shimpack-prep ODS (5 µm x 25 x 2 cm).

Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C fueron obtenidos en un espectrómetro Bruker DRX 500 operando a 500 MHz y 125 MHz respectivamente; los solventes fueron agua deuterada (D<sub>2</sub>O), dimetilsulfóxido (*dms*-*d*<sub>6</sub>) y cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) de la marca Merck. Análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas (HPLC-MS/MS) del extracto acuoso: El sistema de HPLC consiste de 2 bombas (LC-10AVP), un detector espectrofotométrico UV-Vis (SPD-M10AVP) y controladora SCL-10AVP, las condiciones de análisis fueron A: agua ácida al 0,1% (ácido fórmico) y B:

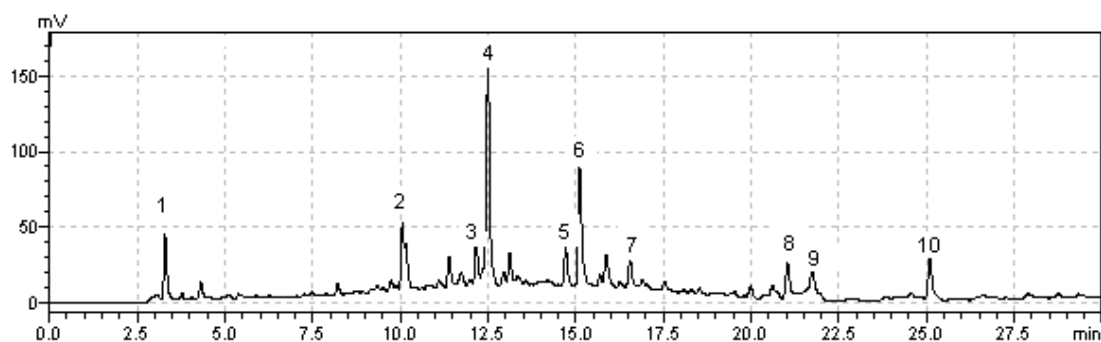
agua/acetonitrilo 75%, fue usado un gradiente de 5% B hasta 95% B en un periodo de 30 minutos a un flujo de 1 mL/min, acoplado a espectrómetro de masas MAxis 3G - Bruker Daltonics, eluyendo con gradiente de solventes A: H<sub>2</sub>O y B: H<sub>2</sub>O/ACN 75%, de 5 a 95% de B en 30 min. Las condiciones del espectrómetro acoplado fueron: flujo 100 µL/min a 200°C, 8,0 L/min de gas y nebulizador a 2 bar y capilar a 4000 V.

Análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas (CL-MS/MS) de la fracción 4 (F4): El sistema de HPLC (Shimadzu® - Japan) consiste de una controladora CBM-20A, 2 bombas (LC-20AD), un detector espectrofotométrico SPD-20A, horno CTO-20A a 25°C, a las condiciones cromatográfica de A: agua ácida al 0,1% (ácido fórmico) y B: agua/acetonitrilo 75%, fue usado un gradiente de 5% B hasta 60% B en 30 minutos a un flujo de 1 mL/min, columna Gemini C18 (5 µm x 250 x 4,6 mm) acoplado a espectrómetro de masas Bruker Daltonics Esquire 3000 plus, flujo 100 µL/min a 300°C, 9,0 L/min de gas y nebulizador a 27 psi y capilar a 4000 V.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

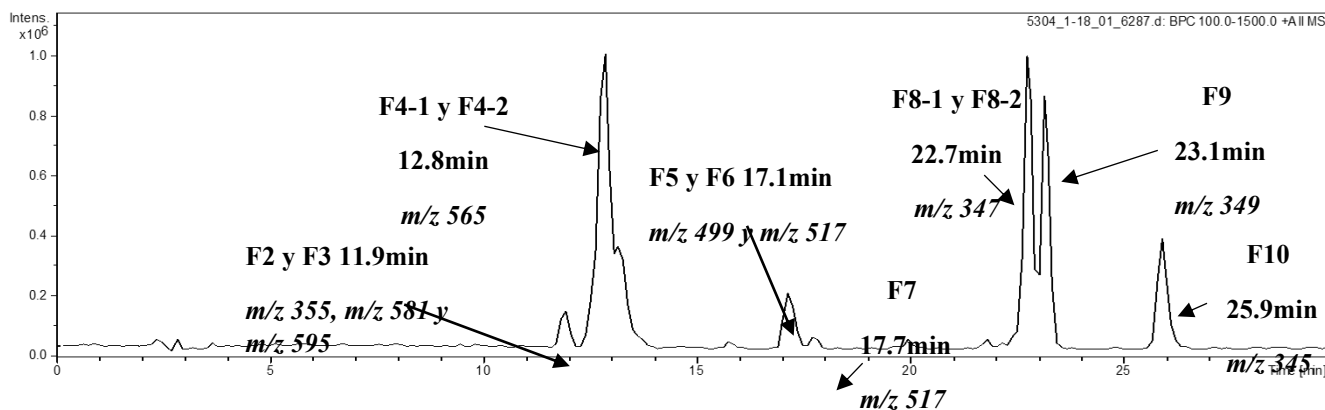
El extracto acuoso fue analizado en un HPLC analítico con la intención de determinar las condiciones cromatográficas para obtener la mejor separación entre los picos cromatográficos en poco tiempo (30 min) como se puede observar en la Figura 1.

Después de obtener las condiciones cromatográficas en el HPLC analítico, el método fue aplicado en un cromatógrafo HPLC semipreparativo y se procedió a la separación. Las 10 fracciones obtenidas por este cromatógrafo fueron sometidas a evaporación del acetonitrilo con rotaevaporador y el agua de la fracción fue removida por liofilización.



**Figura 1.-** Cromatograma del extracto acuoso de *Baccharis trimera* (AE) en HPLC (analítico).

A partir de la fracción 2 hasta la 10, cada fracción fueron sometidos a análisis por RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C. El extracto acuoso fue analizado por cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas de alta resolución. En la Figura 2 presentamos el cromatograma del pico base obtenido mediante HPLC-MS/MS. En el cromatograma se puede observar que las fracciones F2 y F3 están coeluyendo, así como también las fracciones F5 y F6 y eso se debe a que la columna utilizada para analizar el EA en el cromatógrafo analítico es diferente de la columna utilizada en el HPLC-MS/MS, ambas son de fase reversa, pero de diferentes marcas.



**Figura 2.-** Cromatograma de pico base obtenido por HPLC-MS/MS con la indicación de las fracciones obtenidas del fraccionamiento del extracto acuoso de *B. trimera*

**Fracción 2 (F2)** fue analizada por RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en D<sub>2</sub>O, sus respectivos desplazamientos químicos están en las tablas 1 y 3, la comparación de estos con los reportados por la literatura<sup>6,7</sup> confirmaron que se trataba del ácido 5-*O*-cafeoilquínico, también conocido con el nombre ácido clorogénico.

**Fracción 3 (F3)** fue analizada por RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en D<sub>2</sub>O, sus desplazamientos químicos están en la tabla 1 y 3, la comparación de estos con los reportados por literatura confirmó que se trataba de una mezcla del ácido 4-*O*-cafeoilquínico también llamado de ácido criptoclorogénico (**F3-1**)<sup>8</sup>, también fueron identificados 6,8-Di-*C*-glucosilapigenina conocida como vicenina 2 (**F3-2**)<sup>9</sup> y luteolina 6-*C*- $\alpha$ -arabinopiranosil-8-*C*- $\beta$ -glucopiranosideo también llamada de isocarlinosideo (**F3-3**)<sup>10</sup>.

En la Figura 2 se aprecia el cromatograma de pico base obtenido del EA por HPLC-MS/MS en el que fue observado que las fracciones F2 y F3 coeluyen con tiempo de retención 11,9 min, a este tiempo se observó los iones moleculares con  $m/z$  355, 1034, 581, 1528 y 595, 1678 [M+H]<sup>+</sup> y sus fragmentos respectivos que son explicados como se generan cada uno de ellos en la tabla 5. Los espectros de masas de flavonoides *Di-C*-glucosilados presentan iones que son generados por las sucesivas pérdidas de agua y fragmentos producto de las quiebras intramoleculares de los azúcares, como las hexosas que presentan [M+H-120]<sup>+</sup>, [M+H-90]<sup>+</sup>, [M+H-134]<sup>+</sup>; las pentosas presentan [M+H-90]<sup>+</sup>, [M+H-60]<sup>+</sup>, [M+H-104]<sup>+</sup>, y otros fragmentos<sup>11</sup>.

**Fracción 4 (F4):** El análisis del espectro de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en *dms**o*-*d*<sub>6</sub>, conllevan a que estamos tratando con una mezcla de flavonas *C*-glucosiladas y la comparación de sus desplazamientos químicos con los reportados por la referencia bibliográfica<sup>10</sup>, confirmaron que la mezcla era de schaftosideo (**F4-1**) e isoschaftosideo (**F4-2**) también llamados de apigenina 6-*C*- $\beta$ -glucopiranosil-8-*C*- $\alpha$ -arabinopiranosideo y apigenina 6-*C*- $\alpha$ -arabinopiranosil-8-*C*- $\beta$ -glucopiranosideo respectivamente. El espectro de masas (Tabla 5) presenta un ion molecular  $m/z$  565, 429 [M+H]<sup>+</sup> con tiempo de retención 12,8 min y el ion molecular  $m/z$  565, 4391 [M+H]<sup>+</sup> con tiempo de retención 13,4 min. La ausencia de los fragmentos [M+H-162]<sup>+</sup>, [M+H-146]<sup>+</sup> y [M+H-(162+146)]<sup>+</sup> en  $m/z$  403, 419 y 257 sugiere que se trata de un flavonoide *C*-glucosilado como fue explicado en la **F3**.



**Tabla 1.-** Desplazamiento químico de los espectros de RMN-<sup>1</sup>H (ppm, 500 MHz) de los compuestos F2, F3-1, F3-2, F3-3, F4-1 y F4-2

H	F2	F3-1	H	F3-2	F3-3	F4-1	H	F4-2
	D <sub>2</sub> O			D <sub>2</sub> O		DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> sachafosideo		DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> isosachafosid
2a	2,1 <i>m</i>	1,97-2,02 <i>m</i>	3	6,64 <i>s</i>	6,73 <i>s</i>	6,79 <i>s</i>	3	6,78 <i>s</i>
2e	2,1 <i>m</i>	1,97-2,02 <i>m</i>	2'	7,91 <i>d J</i> =8,5	7,45 <i>s</i>	8,02 <i>d J</i> =7,95	2'	7,97 <i>d J</i> =7,95
3	4,23 <i>d J</i> =4	4,24 <i>m</i>	3'	6,96 <i>d J</i> =8		6,91 <i>d J</i> =8,85	3'	6,91 <i>d J</i> =8,85
4	3,91 <i>m</i>	5,4 <i>m</i>	5'	6,96 <i>d J</i> =8	6,86 <i>d J</i> =8,5	6,91 <i>d J</i> =8,85	5'	6,91 <i>d J</i> =8,85
5	5,25 <i>ddd J</i> =9,8 8,5 4,5	4,24 <i>m</i>	6'	7,91 <i>d J</i> =8,5	7,46 <i>m</i>	8,02 <i>d J</i> =7,95	6'	7,97 <i>d J</i> =7,95
6a	2,1 <i>m</i>	1,97-2,02 <i>m</i>		<b>6-C-β-glu</b>	<b>6-C-α-ara</b>	<b>6-C-β-glu</b>		<b>6-C-α-ara</b>
6e	2,1 <i>m</i>	1,97-2,02 <i>m</i>	1''	5,52 <i>d J</i> =8	5,24 <i>d J</i> =4	4,69 <i>d J</i> =95	1''	4,58 <i>d J</i> =9,5
2''	7,07 <i>s</i>	7,17 <i>s</i>	2''	3,87 <i>m</i>	3,92 <i>m</i>	3,23-3,90 <i>m</i>	2''	3,23-3,90 <i>m</i>
5'	6,86 <i>d J</i> =8	6,82 <i>d J</i> =8	3''	3,31 <i>m</i>	3,47 <i>m</i>	3,23-3,90 <i>m</i>	3''	3,23-3,90 <i>m</i>
6'	6,99 <i>d J</i> =8	7,08 <i>d J</i> =8	4''	3,31 <i>m</i>	3,83 <i>m</i>	3,23-3,90 <i>m</i>	4''	3,23-3,90 <i>m</i>
7'	7,49 <i>d J</i> =15,5	7,58 <i>d J</i> =16	5''	3,3 <i>m</i>	3,63 <i>m</i>	3,23-3,90 <i>m</i>	5''a	3,23-3,90 <i>m</i>
8'	6,23 <i>d J</i> =16	6,38 <i>d J</i> =16	6''a	3,56 <i>m</i>	3,86 <i>m</i>	3,23-3,90 <i>m</i>	5''e	3,23-3,90 <i>m</i>
			6''e	3,7 <i>m</i>		3,23-3,90 <i>m</i>		<b>8-C-β-glu</b>
				<b>8-C-β-glu</b>	<b>8-C-β-glu</b>	<b>8-C-α-ara</b>	1'''	4,81 <i>d J</i> =9,5
			1'''	4,65 <i>d J</i> =9	4,45 <i>d J</i> =8	4,77 <i>d J</i> =9,5	2'''	3,23-3,90 <i>m</i>
			2'''	3,87 <i>m</i>	3,96 <i>m</i>	3,23-3,90 <i>m</i>	3'''	3,23-3,90 <i>m</i>
			3'''	3,38 <i>m</i>	3,64 <i>m</i>	3,23-3,90 <i>m</i>	4'''	3,23-3,90 <i>m</i>
			4'''	3,43 <i>m</i>	3,39 <i>m</i>	3,23-3,90 <i>m</i>	5'''	3,23-3,90 <i>m</i>
			5'''	3,32 <i>m</i>	3,32 <i>m</i>	3,23-3,90 <i>m</i>	6'''a	3,23-3,90 <i>m</i>
			6'''a	3,56 <i>m</i>	3,56 <i>m</i>		6'''e	3,23-3,90 <i>m</i>
			6'''e	3,76 <i>m</i>	3,8 <i>m</i>			
			OH5			13,82 <i>s</i>	OH5	13,66 <i>s</i>

multiplete (*m*), doblete (*d*), duploduplodoblete (*ddd*), singlete (*s*), constante de acoplamiento en Hz (*J*), glucosa (*glu*), arabinosa (*ara*)

**Fracción 5 (F5):** Por análisis de sus desplazamientos químicos (tabla 2 y 4) de sus espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en D<sub>2</sub>O se propone que la muestra F5 es el ácido 3,5-*O*-dicafeoilshikimico auxiliados por las referencias<sup>12,13</sup>, la confirmación de la estructura fue por análisis de su espectro de masas que presento un ion molecular en *m/z* 499,1254 [M+H]<sup>+</sup> y sus fragmentos *m/z* 319,038 [M+H-180]<sup>+</sup> que viene a ser la perdida de la molécula neutra del ácido cafeico, *m/z* 283,1679 [M+H-180-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> este fragmento se genera después de la perdida de la molécula neutra del ácido cafeico, molécula sufre una doble deshidratación; el fragmento *m/z* 163,0404 [M+H-ácido cafeoilshikímico]<sup>+</sup> se generó por la pérdida de la molécula neutra del ácido cafeoilshikímico, después de la pérdida anterior el fragmento sufre una deshidratación generando *m/z* 145,0304 [M+H-ácido cafeoilshikímico-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> y el fragmento en *m/z* 111,0455 [M+H-ácido cafeoilshikimico-H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub>]<sup>+</sup> es generado después de la perdida de la molécula neutra del ácido cafeoilshikímico, el fragmento sufre una descarboxilación<sup>14,15</sup>.

**Fracción 6 (F6)** fue analizada por RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en DMSO, sus desplazamientos químicos están en las tablas 2 y 4, la comparación de estos con los reportados por la referencia bibliográfica<sup>6,16</sup> confirmaron que se trataba del ácido 1,5-*O*-dicafeoilquínico, también conocido con el nombre de cinarina. En el análisis del EA por HPLC-MS/MS fue observado que las fracciones F5 y F6 coeluyen con tiempo de retención 17,1 min, a este tiempo se observó los iones moleculares con *m/z* 499,1254 y 517,136 [M+H]<sup>+</sup> y sus fragmentos respectivos que son explicados como se generan cada uno de ellos en la tabla 5. Se sugiere que el ion molecular *m/z* 499,1254 [M+H]<sup>+</sup> le corresponde al ácido 3,5-*O*-

dicafeoilshikimico (F5)<sup>14,15</sup> y el ion molecular  $m/z$  517,136  $[M+H]^+$  le corresponde al ácido 1,5-*O*-dicafeoilquínico (F6)<sup>17,18</sup>.

**Fracción 7 (F7)** fue analizada por RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en *dms*<sub>o</sub>-*d*<sub>6</sub>, sus desplazamientos químicos están en las tablas 2 y 4 respectivamente, la comparación de estos con los reportados por la literatura<sup>6,19</sup> confirmaron que se trataba del ácido 3,5-*O*-dicafeoilquínico. Por el análisis del EA por HPLC-MS/MS fue observado que en el cromatogramas totales (Figura 2) la fracción 7 eluye a 17,7 min, a este tiempo de retención se observó el ion molecular  $m/z$  517,136  $[M+H]^+$  y sus fragmentos respectivos que son explicados como se generan en la tabla 5. Se sugiere que el ion molecular que el ion molecular  $m/z$  517,136  $[M+H]^+$  le corresponde al ácido 3,5-*O*-dicafeoilquínico (F7)<sup>17,18</sup>.

**Tabla 2.-** Desplazamiento químico de los espectros de RMN-<sup>1</sup>H (*ppm*, 500 MHz) de los compuestos F5, F6, F7, F9 y F10

H	F5 D <sub>2</sub> O	H	F6 DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	F7 DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	H	F9 CDCl <sub>3</sub>	H	F10 CDCl <sub>3</sub>
2	3,73 <i>m</i>	2a	1,83-2,03 <i>m</i>	1,93-2,18 <i>m</i>	1	1,34 <i>m</i>	3	6,59 <i>s</i>
3	4,64 <i>m</i>	2e	1,83-2,03 <i>m</i>	1,93-2,18 <i>m</i>	2a	2,31 <i>m</i>	8	6,62 <i>s</i>
4	5,23 <i>m</i>	3	4,1 <i>m</i>	5,35 <i>m</i>	2e	2,15 <i>m</i>	2'	7,40 <i>d J</i> =2,4
5	4,15 <i>m</i>	4	3,72 <i>m</i>	3,84 <i>m</i>	3	6,72 <i>d J</i> =6,72	5'	6,97 <i>d J</i> =9
6a	1,97 <i>m</i>	5	5,4 <i>m</i>	5,19 <i>m</i>	6a	2,31 <i>m</i>	6'	7,46 <i>d J</i> =8,4
6e	2,1 <i>m</i>	6a	1,83-2,03 <i>m</i>	1,93-2,18 <i>m</i>	6e	1,65 <i>m</i>	6-OCH <sub>3</sub>	3,91 <i>s</i>
2'	6,91 <i>s</i>	6e	1,83-2,03 <i>m</i>	1,93-2,18 <i>m</i>	7	4,10 <i>m</i>	7-OCH <sub>3</sub>	3,99 <i>s</i>
5'	6,69 <i>m</i>	2'	7,01 <i>s</i>	7,05 <i>d J</i> =1,5	8	1,65 <i>m</i>	4'-OCH <sub>3</sub>	3,97 <i>s</i>
6'	6,80 <i>d J</i> =7,5	5'	6,76 <i>d J</i> =8	6,77 <i>d J</i> =8	10	1,65 <i>m</i>		
7'	7,5 <i>d J</i> =16	6'	6,92 <i>m</i>	6,98 <i>m</i>	11	1,34 <i>m</i>		
8'	6,21 <i>m</i>	7'	7,44 <i>d J</i> =16	7,47 <i>d J</i> =16	12	1,34 <i>m</i>		
2''	6,87 <i>s</i>	8'	6,22 <i>d J</i> =16	6,25 <i>d J</i> =16	13	2,49 <i>m</i>		
5''	6,62 <i>m</i>	2''	7,02	7,04 <i>d J</i> =2	14a	2,67 <i>m</i>		
6''	6,80 <i>d J</i> =7,5	5''	6,13 <i>d J</i> =8	6,76 <i>d J</i> =8	14e	2,15 <i>m</i>		
7''	7,39 <i>m</i>	6''	6,92 <i>m</i>	6,94 <i>m</i>	16	4,47 <i>dd J</i> =8,78 7,46		
8''	6,21 <i>m</i>	7''	7,43 <i>d J</i> =16	7,43 <i>d J</i> =16	17	1,04 <i>s</i>		
		8''	6,19 <i>d J</i> =16	6,16 <i>d J</i> =16	18	0,86 <i>s</i>		
					19a	5,3 <i>d J</i> =7,46		
					19e	3,93 <i>m</i>		
					20	-		

multiplete (*m*), doblete (*d*), duplodoblete (*dd*), singlete (*s*), constante de acoplamiento en Hz (*J*)

**Fracción 8 (F8)** fue analizada por RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub>, sus desplazamientos químicos están en la tabla 4, la comparación de estos con los reportados por literatura confirmó que se trataba de una mezcla de diterpenos *ent*-clerodanos, gaudichanolida B (**F8-1**)<sup>20</sup> y su epímero en C8 (**F8-2**)<sup>21</sup>.

En el análisis del EA por HPLC-MS/MS (Tabla 5) fue observado que la fracción 8 eluye a 22,7 min, a este tiempo de retención se observó los iones moleculares  $m/z$  693,3665  $[2M+H]^+$  y 347,1867  $[M+H]^+$  y sus fragmentos respectivos que son explicados como se originan en la tabla 5.

**Tabla 3.-** Desplazamiento químico de los espectros de RMN -<sup>13</sup>C (ppm, 125 MHz) de los compuestos F2, F3-1, F3-2, F3-3, F4-1, F4-2 y F10

C	F2	F3-1	C	F3-2	F3-3	F4-1	F4-2	F10
	D <sub>2</sub> O			D <sub>2</sub> O		DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>		CDCl <sub>3</sub>
1	74,76	75,89	2	164,5	163,8	163,71	163,79	164,38
2	36,37	39,75	3	101,18	102,23	102,27	102,49	103,25
3	71,34	66,40	4	182,31	182,31	182,08	182,15	182,52
4	70,53	74,51	5	159,52	159,55	160,39	160,39	153,08
5	69,11	69,63	6	109,8	109	108,48	108,21	131,9
6	36,48	34,97	7	162,5	164	161,8	161,19	158,59
7	176,85	177,79	8	104,6	104,6	103,98	104,6	90,63
1'	126,71	128,66	9	156	155,4	153,98	154,59	150,77
2'	114,99	115,36	10	102,23	101,18	103,24	103,19	110,89
3'	146,13	146,23	1'	121,5	119,8	121,25	121,35	123,22
4'	147,04	147,6	2'	128,69	114,84	128,99	128,95	105,44
5'	116,01	117,44	3'	115,7	144,04	115,94	115,94	146,25
6'	122,65	123,18	4'	160,6	146,97	159,35	158,6	151,2
7'	144,14	147,39	5'	115,7	115,12	115,94	115,94	112,48
8'	114,11	114,49	6'	128,69	121,2	128,99	128,95	118,64
9'	168,49	168,84		<b>6-C-β-glu</b>	<b>6-C-α-ara</b>	<b>6-C-β-glu</b>	<b>6-C-α-ara</b>	
			1''	74,09	73,64	73,29	74,18	
			2''	70,56	69,18	80,59	73,88	
			3''	78,63	73,19	78,78	70,96	
			4''	69,74	69,74	70,02	69,53	
			5''	80,66	70,9	81,2	68,46	
			6''	60,56		60,73		
				<b>6-C-β-glu</b>	<b>8-C-β-glu</b>	<b>8-C-α-ara</b>	<b>8-C-β-glu</b>	
			1'''	74,69	73,09	74,6	73,24	
			2'''	70,56	70,8	74,18	70,59	
			3'''	79	78,8	70,96	78,9	
			4'''	71,44	71,44	68,85	70,56	
			5'''	81	81	68,46	81,86	
			6'''	60,74	6,74		61,22	
			6-OCH <sub>3</sub>					60,35
			7-OCH <sub>3</sub>					55,88
			4'-OCH <sub>3</sub>					55,45

glucosa (glu), arabinosa (ara).

**Fracción 9 (F9)** fue analizada por RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub>, sus desplazamientos químicos están en las tablas 2 y 4 respectivamente, la comparación de estos con los reportados por literatura confirmó que se trata de un diterpeno del tipo *ent*-clerodano<sup>22</sup>. En el análisis del EA por HPLC-MS/MS fue observado que por este análisis la fracción 9 eluye a 22,7 min, a este tiempo de retención se observó los iones moleculares *m/z* 697,3981 [2M+H]<sup>+</sup> y 349,2027 [M+H]<sup>+</sup> y sus fragmentos<sup>23</sup> respectivos que son explicados como se generan en la tabla 5.

**Fracción 10 (F10)** fue analizada por RMN-<sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub>, sus desplazamientos químicos están en la tabla 2, la comparación de estos con los reportados por literatura confirmó que se trataba del flavonoide eupatorina<sup>24</sup>.

En el análisis del EA por HPLC-MS/MS fue observado que por este análisis la fracción 10 eluye a 25,9 min, a este tiempo de retención se observó el ion molecular *m/z* 345,0986 [M+H]<sup>+</sup> y sus fragmentos<sup>25</sup>.

**Tabla 4.** - Desplazamiento químico de los espectros de RMN -<sup>13</sup>C (ppm, 125 MHz) de los compuestos F5, F6, F7, F8-1, F8-2 y F9

C	F5	C	F6	F7	C	F8-2	F8-1	F9
	D <sub>2</sub> O		DMSO			CDCl <sub>3</sub>		
1	77,73	1	76,86	73,36	1	20,9	20,39	19,59
2	65,02	2	35,61	35,68	2	27,62	27,36	27,31
3	72,73	3	68,43	70,61	3	135,12	137,1	135,09
4	77,11	4	72,78	69,81	4	134,97	136,14	137,92
5	70,53	5	70,8	71	5	44,98	48,01	44,76
6	36,67	6	39,5	34,7	6	48,94	50,54	40,26
7	182,22	7	175,76	175,35	7	210,88	209,06	72
1'	126,58	1'	125,49	125,77	8	52,39	51,39	40,26
2'	114,75	2'	114,78	114,89	9	40,53	43,6	38,18
3'	145,98	3'	145,63	145,69	10	45,79	47,75	48,9
4'	146,45	4'	148,48	148,51	11	35,48	35,73	36,61
5'	115,86	5'	115,81	115,94	12	26,53	26,86	26,33
6'	123,18	6'	121,54	121,59	13	36,18	35,88	35,95
7'	144,02	7'	145,37	145,31	14	34,16	34,55	34,41
8'	115,65	8'	114,01	115,68	15	176,89	176,54	176,98
9'	169,04	9'	166,06	166,24	16	72,64	73,1	73,23
1''	126,45	1''	125,58	125,69	17	9,18	7,8	11,87
2''	113,9	2''	114,71	114,79	18	169,83	167,94	169,34
3''	145,98	3''	145,63	145,69	19	72,7	71,09	72,67
4''	146,15	4''	148,39	148,39	20	24,46	19,01	19,13
5''	115,28	5''	115,81	115,88				
6''	123,1	6''	121,44	121,37				
7''	144,02	7''	145,19	144,94				
8''	115,65	8''	114,32	114,21				
9''	168,61	9''	165,91	165,69				

**Tabla 5.-** Compuestos identificados por HPLC-MS/MS del extracto acuoso de las partes aéreas de *Baccharis trimera*

Frac.	T. R. min	Sustancia Química	Fórmula	[M+H] <sup>+</sup> m/z	MS <sup>2</sup> m/z	Referencias
<b>F2</b>	11,9	ácido 5- <i>O</i> -cafeoilquínico	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	355,1034	163,0401 [M+H-ácido químico] <sup>+</sup> , 135,045 [M+H-ácido químico-CO] <sup>+</sup>	Clifford et al 2003
<b>F3-1</b>		ácido 4- <i>O</i> -cafeoilquínico				
<b>F3-2</b>		Vicenina 2	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	595,1678	577,1787 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 559,1472 [M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 541,1391 [M+H-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 523,1228 [M+H-4H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 499,1232 [M+H-60-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 457,1104 [M+H-120-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 439,1039 [M+H-120-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 409,0929 [M+H-150-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 391,0824 [M+H-150-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 379,0823 [M+H-120-60-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 355,0824 [M+H-120-120] <sup>+</sup> , 337,0717 [M+H-120-120-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 325,0727 [M+H-120-150] <sup>+</sup> , 307,0810 [M+H-120-150-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	
<b>F3-3</b>	Isocarlinosideo	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>15</sub>	581,1525	563,1322 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 545,1285 [M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 509,1171 [M+H-4H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 461,0947 [M+H-120] <sup>+</sup> , 425,0877 [M+H-120-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 395,0777 [M+H-150-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 329,0633 [M+H-90-162] <sup>+</sup> , 311,0577 [M+H-120-162-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 285,2776 [M+H-90-162-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	Li et al 1994	
<b>F4-1</b>	12,8	Schaftosideo	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	565,4290	529,1359 [M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 511,1254 [M+H-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 493,1147 [M+H-4H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 445 [M+H-120] <sup>+</sup> , 427,1024 [M+H-120-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 409,0932 [M+H-120-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 391,0826 [M+H-120-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 379,0833 [M+H-120-30-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 355 [M+H-90-120] <sup>+</sup> , 325,0721 [M+H-120-120] <sup>+</sup>	Li et al 1994
<b>F4-2</b>	13,4	Isoschaftosideo		565,4391	547,1423 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 529,1347 [M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 511,1238 [M+H-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 493,1156 [M+H-4H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 475 [M+H-90] <sup>+</sup> , 445,0985 [M+H-120] <sup>+</sup> , 427,1026 [M+H-120-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 409,0933 [M+H-120-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 391,0828 [M+H-120-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 379,0831 [M+H-120-30-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 325,0723 [M+H-120-120] <sup>+</sup>	
<b>F5</b>	17,1	Ácido 3,5- <i>O</i> -dicafeoilshikímico	C <sub>25</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	499,1254	319,038 [M+H-180] <sup>+</sup> , 283,1679 [M+H-180-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 163,0404 [M+H-ácido cafeoilshikímico] <sup>+</sup> , 145,0304 [M+H-ácido cafeoilshikímico-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 111,0455 [M+H-ácido cafeoilshikímico-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	Jaiswal et al 2010, 2011
<b>F6</b>		Ácido 1,5- <i>O</i> -dicafeoilquínico	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	517,136	163,0403 [M+H-ácido cafeoilquínico] <sup>+</sup> , 145,0303 [M+H-ácido cafeoilquínico-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	Clifford et al 2003, 2005
<b>F7</b>	17,7	Ácido 3,5- <i>O</i> -dicafeoilquínico	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	517,136	163,0403 [M+H-ácido cafeoilquínico] <sup>+</sup> , 145,0303 [M+H-ácido cafeoilquínico-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	
<b>F8</b>	22,7	Gaudichanolida B; epímero de Gaudichanolida B	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>	347,1867	301,1809 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 283,1703 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 255,1611 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 199,134 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-H <sub>2</sub> O-3CO] <sup>+</sup> , 183,1192 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO-H <sub>2</sub> O-3CO-CH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	Herz et al 1977
<b>F9</b>	23,1	7 $\alpha$ -hidroxi-ent-cleroda-3-en-15,18-díácido-16,19-dilactona	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>	349,2027	331,1927 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 313,1807 [M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 295,1715 [M+H-3H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 285,1843 [M+H-2H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 267,1683 [M+H-2H <sub>2</sub> O-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> ,	Abu-Reidah et al 2019
<b>F10</b>	25,9	Eupatorina	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	345,0986	330,0748 [M+H-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 312,0641 [M+H-CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 297,0412 [M+H-CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 284,0691 [M+H-CH <sub>3</sub> -2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 269,0456 [M+H-CH <sub>3</sub> -2H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 241,0515 [M+H-CH <sub>3</sub> -2H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	

## CONCLUSIONES

El método presentado en este artículo es recomendable porque siguiendo este método fue posible la identificación de 13 compuestos, de los cuales 6 fueron aislados (F2, F5, F6, F7, F9 y F10), 7 fueron identificados en mezclas (F3-1, F3-2 y F3-3, F4-1 y F4-2, F8-1 y F8-2). La manera de obtener el extracto acuoso es el mismo método que se hace para el uso tradicional, ahora se sabe cuáles son los componentes químicos que se están injiriendo en una tasa de infusión de *Baccharis trimera*. En el presente trabajo se reporta por primera vez la incidencia de ácido 3,5-*O*-dicaffeoilshikímico en *B. trimera*.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Pedro M. Magalhães del CPQBA – UNICAMP por la provisión de *Baccharis trimera*; también agradecen por el soporte financiero de FAPESP, CNPq y CAPES del Brasil.

## REFERENCIAS

1. Paul EL, Lunardelli A, Caberlon E, de Oliveira CB, Santos RCV, Biolchi V, et al.. Anti-inflammatory and Immunomodulatory effects of *Baccharis trimera* Aqueous extract on induced pleurisy in rats and lymphoproliferation in vitro. *Inflammation*. 2009; 32(6): 419 – 425.
2. Rabelo SAC, Costa CD. A review of biological and pharmacological activities of *Baccharis trimera*. *Chem Biol Interact*. 2018; 296: 65 – 75.
3. Gamberini MT. Caracterização e mecanismos envolvidos na atividade cardiovascular do extrato aquoso e frações purificadas de *Baccharis trimera*, Less. [Tese de doutorado em Farmacologia]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1996
4. Biondo TM, Tanae MM, Coletta ED, Lima-Landman MT, Lapa AJ, Souccar C. Antisecretory actions of *Baccharis trimera* (Less.) DC aqueous extract and isolated compounds: analysis of underlying mechanisms. *J Ethnopharmacol*. 2011; 136(2): 368-73.
5. Garcia FA, Tanae MM, Torres LM, Lapa AJ, Lima-Landman MT, Souccar C. A comparative study of two clerodane diterpenes from *Baccharis trimera* (Less) DC. On the influx and mobilization of intracellular calcium in rato cardiomyocytes. *Phytomed*. 2014; 21(8-9):1021-5.
6. Tolonen A, Joutsamo T, Mattlla S, Kamarainen T, Jalonen J. Identification of isomeric dicaffeoylquinic acids from *Eleutherococcus senticosus* using HPLC-ESI/TOF/MS and <sup>1</sup>H-NMR methods. *Phytochem Anal*. 2002;13: 316-328.
7. Naidu MM, Sulochanamma G, Sampathu SR, Srinivas P. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffe. *Food Chem*. 2008; 107: 377-384.
8. Liu H, Zhang X, Wu C, Wu H, Guo P, Xu X. Anti-hyperlipidemic caffeoylquinic acids from the fruits of *Pandanus tectorius* Soland. *JAppl Pharm Sci*. 2013; 3(8): 16 – 19.
9. Lu Y, Foo Y. Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochem*. 2000; 55: 263 – 267.

10. Xie C, Veitch NC, Houghton PJ, Simmonds MSJ. Flavone C-glycosides from *Viola yedoensis* Makino. *Chem Pharm Bull.* 2003; 51(10): 1204 – 1207.
11. Cuyckens F, Claeys M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *J Mass Spectrom.* 2004; 39: 1 – 15.
12. Thongphichai W, Pongkittiphon V, Laorpaksa A, Wiwatcharakornkul W, Sukrong S. Antimicrobial activity against foodborne pathogens and antioxidant activity of plant leaves traditionally used as food packaging. *Foods.* 2023; 12: 2409. doi: 10.3390/foods12122409.
13. Fukuota M. Chemical and toxicological studies on Bracken Fern, *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* VI. Isolation of 5-*O*-caffeoylshikimic acid as an antithiamine factor. *Chem Pharm Bull.* 1982; 30(9): 3219 – 3224.
14. Jaiswal R, Sovdat T, Vivian F, Kuhner N. Profiling and characterization by LC-MS<sup>n</sup> of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoylshikimate ester in maté (*Ilex paraguariensis*). *J Agric Food Chem.* 2010; 58: 5471 – 5484.
15. Jaiswal R, Deshpande S, Kuhner N. Profiling the chlorogenic acids of *Rudbeckia hirta*, *Helianthus tuberosus*, *Carlina acaulis* and *Symphyotrichum novae-angliae* leaves by LC-MS<sup>n</sup>. *Phytochem Anal.* 2011; 22: 432 – 441.
16. Etemadi-Tajbakhsh N, Faramarzi M-A, Delnavazi M-R. 1,5-dicaffeoylquinic acid, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from the root of *Dorema ammoniacum* D. Don. *Res Pharm Sci.* 2020; 15(5): 429 – 436.
17. Clifford MN, Johnston KL, Knight S, Kuhnert N. Hierarchical scheme for LC-MS<sup>n</sup> identification of chlorogenic acids. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 2900 – 2911.
18. Clifford MN, Knight S, Kuhnert N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS<sup>n</sup>. *J Agric Food Chem.* 2005; 53: 3821 – 3832.
19. Lee HJ, Lee JY, Kim SM, Nho CW, Jung SH, Song D-G, Kim CY, Pan C-H. Inhibitory effects of dicaffeoylquinic acids from *Artemisia dubia* on aldo-keto reductase Family 1B10. *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 2010; 53(6): 826 – 830.
20. Hayashi KI, Kanamori T, Yamazoe A, Yamada M, Nozaki H. Gaudichanolides A and B, clerodane diterpenes from *Baccharis gaudichaudiana*. *J Nat Prod.* 2005; 68, 1121 – 1124.
21. Dai J, Suttisri R, Bordas E, Soejarto DD, Kinghorn AD. Clerodane diterpenoids from *Baccharis articulata*. *Phytochem.* 1993; 34(4): 1087 – 1090.
22. Kuroyanagi M, Fujita K, Kazaoka M, Matsumoto S, Ueno A, Fukushima S, Katsuoka M. Studies on the constituents of *Baccharis genistelloides*. *Chem Pharm Bull.* 1985; 33(11): 5975 – 5978.
23. Herz W, Pilotti A-M, Söderholm A-C, Shuhama IK, Vichnewski W. New ent-clerodane-type diterpenoids from *Baccharis trimera*. *J Org Chem.* 1977; 42(24): 3913 – 3917.
24. Gurer F, Demir S, Ozturk SB, Karaalp C. Secondary metabolites of endemic *Centaurea aphrodisea* Boiss. *J Fac Pharm Ankara.* 2024; 48(1): 1 – 7.
25. Abu-Reidah IM, Arráez-Roman D, Al-Nuri M, Warad I, Segura-Carretero A. Untargeted metabolite profiling and phytochemical analysis of *Micromeria fruticosa* L. (Lamiaceae) leaves. *Food Chem.* 2019; 279: 128 – 143.
26. Li QM, Claeys M. Characterization and differentiation of diglycosyl flavonoids by positive ion fast atom bombardment and tandem mass spectrometry. *Biol Mass Spectrom.* 1994; 23: 406 – 416.

# CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE LOS FRUTOS DE *CAESALPINIA SPINOSA* (MOLINA) KUNTZE “TARA”

Jimmy Limaymanta Gonzales<sup>a\*</sup>, Mónica Guadalupe Retuerto-Figueroa<sup>a</sup>, Jossimar P. Tarazona Huamani<sup>a</sup>, Martha Francisca Cosquillo Rafael<sup>a</sup>, Ursula Villafuerte-Montes<sup>a</sup>,  
Eva Ramos Llica<sup>a</sup>

## RESUMEN

La *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze es una especie vegetal con un gran potencial en medicina, minería, etc. Los objetivos fueron determinar los parámetros físico químicos y la capacidad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso de los frutos de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. En el extracto acuoso se determinaron las características físico-químicas y la presencia de principales grupos de metabolitos mediante *screening* fitoquímico, asociados con actividad biológica. El contenido de polifenoles totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante se evaluó *in vitro* mediante el método de DPPH y el método de ABTS. El extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze tuvo una densidad relativa 1,0024 g/mL. Respecto al *screening* fitoquímico, se identificó algunos metabolitos, destacando compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y heterósidos. El contenido de fenoles totales fue 365,75 (µg EAG/mg). La capacidad antioxidante con el método DPPH fue IC<sub>50</sub> 3,38 µg/mL y con el método de ABTS IC<sub>50</sub> 4,51 µg/mL. La capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC-DPPH) fue 2,19 (µg trolox/mg) y la capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC-ABTS) fue 2,14 (µg trolox/mg). Se concluye que el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze presento capacidad antioxidante que guarda correlación con el contenido de compuestos fenólicos.

**Palabras clave:** *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze; antioxidantes; fenoles.

---

<sup>a</sup> Grupo de investigación de Farmacognosia y Medicina Tradicional. Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima, Perú \*[Jimmy.limaymanta@gmail.com](mailto:Jimmy.limaymanta@gmail.com)



# PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF THE AQUEOUS EXTRACT OF THE FRUITS OF *CAESALPINIA SPINOSA* (MOLINA) KUNTZE “TARA”

## ABSTRACT

*Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze is a plant species with great potential in medicine, mining, etc. The objectives were to determine the physicochemical parameters and the *in vitro* antioxidant capacity of the aqueous extract of the fruits of *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. In the aqueous extract, the physical-chemical characteristics and the presence of main groups of metabolites were determined through phytochemical screening, associated with biological activity. The content of total polyphenols was determined by the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant capacity was evaluated *in vitro* by the method of DPPH and the method of ABTS. The aqueous extract of *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze had a relative density of 1,0024 g/mL. Regarding the phytochemical screening, some metabolites were identified, highlighting phenolic compounds, flavonoids, tannins and heterosides. The total phenolic content was 365,75 ( $\mu\text{g}$  EAG/mg). The antioxidant capacity with the DPPH method was IC<sub>50</sub> 3,38  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and with the ABTS method IC<sub>50</sub> 4,51  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC-DPPH) was 2,19 ( $\mu\text{g}$  trolox/mg) and the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC-ABTS) was 2,14 ( $\mu\text{g}$  trolox/mg). It is concluded that the aqueous extract of *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze presented antioxidant capacity that correlates with the content of phenolic compounds.

**Keywords:** *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze; antioxidants; phenols

## INTRODUCCIÓN

La *Caesalpinia spinosa* “tara” es un árbol originario de Perú, distribuido por todos los Andes Sudamericanos, siendo la tara peruana de mejor calidad frente a la de otros países, se utiliza en la industria del curtido por su alto contenido de taninos (industria química) y gomas (aditivo hidrocoloide) <sup>(1)</sup>. Es un árbol que tiene una altura de 4 a 8 metros, pero puede llegar hasta 12 metros, si se encuentra en condiciones óptimas. Sus flores se disponen en racimos y sus frutos son vainas aplanadas de un color que varía desde verde hasta rojo – anaranjado, dependiendo del grado de madurez, con tamaño de hasta 10 centímetros de largo y 2 centímetros de ancho. Cada vaina contiene entre 5 a 6 semillas redondeadas de 0,6 a 0,7 centímetros de diámetro, de un color desde verde hasta marrón cuando está madura, que se alcanza al sexto mes después de la floración <sup>(2)</sup>.

El Perú, es el mayor productor de tara con el 80% de la producción mundial, su producción es básicamente de bosques naturales y en algunas zonas de parcelas agroforestales, las principales regiones productoras son Ayacucho y Cajamarca. Se usa tradicionalmente para curtir pieles. Como medicina natural, se usa el polvo de los frutos secos para combatir la sarna de la piel de humanos, perros y ganado; para combatir el dolor de dientes se coloca el polvo de los frutos en las caries, y se usa la cocción de las vainas para el lavado íntimo de la mujer (contra las infecciones). Asimismo, es utilizada

por sus propiedades medicinales como antiinflamatorio mediante gárgaras; alivia la inflamación de los ojos; contra infecciones bronquiales, sinusitis; infecciones vaginales y micóticas, heridas crónicas y en piezas dentales con caries dental; alivia el dolor de estómago, las diarreas, cólera, reumatismo y como depurativo del colesterol <sup>(3)</sup>.

La tara es una de las fuentes más importante de materia prima para la obtención de compuestos con estructura pirogálica; su uso se está aumentando en la industria farmacéutica para la producción del trimethoprim (antibiótico base del Bactrim), trimetoxibenzoato de metilo, trimetoxiacetofenona, antioxidantes, curtientes, etc. Los principales componentes de la tara son los compuestos polifenólicos, que provee la propiedad quelante y capacidad antioxidante. El contenido de taninos en la cáscara del fruto es de 62%, la semilla resalta por su contenido de gomas e hidrocoloides, el principal tanino de la tara se basa en la estructura del ácido gálico <sup>(4)</sup>. Los objetivos fueron determinar los parámetros físico químicos y la capacidad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso de los frutos de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material vegetal

Se recolectaron los frutos de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze en la localidad de Calquis, distrito de Calquis, provincia de San Miguel, departamento de Cajamarca, a finales de julio del 2020. La clasificación taxonómica y certificación botánica fue realizada por el Biólogo José Campos De la Cruz.

### Preparación del extracto acuoso

Para la obtención del extracto, de los frutos recolectados, se seleccionaron sólo las que estaban en su “estado galleta” y se eliminaron aquellas que se encontraban deterioradas. De un promedio de 5 kg de frutos de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, se eliminó las semillas, luego se secó a temperatura ambiente por 24 horas, se llevó a una estufa a 70 °C por 24 horas. Luego se redujo el tamaño de partícula con un molino de cuchillas (Arthur H. Thomas CO, standard Model ROY Willey Mill) y con la ayuda de un tamiz se obtuvo un tamaño de partícula mayor a 400 µm y menor a 630 µm. Se realizó la extracción acuosa usando 25 g de material seco en polvo con 100 mL de agua, se calentó en baño maría a 65 °C por 30 minutos, se filtró con papel Whatman N° 40. El extracto obtenido, se llevó a baño maría hasta la completa evaporación <sup>(5)</sup>.

### Tamizaje fitoquímico

Se preparó una solución acuosa al 5% a partir del extracto seco, se procedió a realizar un *screening* fitoquímico según la técnica descrita por Lock de Ugaz <sup>(5)</sup>.

### Determinación de los parámetros fisicoquímicos <sup>(6)</sup>

- a) Densidad relativa: Se midió 10 mL en un picnómetro marca ADAM modelo HCB 123 y se pesó en una balanza analítica OHAUS (220 mg d= 0,1 mg). La determinación se hizo por triplicado.

- b) Sólidos totales: Se determinó por diferencia del peso del recipiente (placa Petri) con 5 mL del extracto (llevado a sequedad en una estufa a 105 °C hasta peso constante) y el peso del recipiente vacío. Se usó una balanza analítica OHAUS (220 mg d= 0,1 mg) La determinación se hizo por triplicado.
- c) Índice de refracción (IR) y grados Brix: Se determinaron por triplicado mediante un refractómetro de grados Brix (ATAGO ® 43125). Se usó 50 µL del extracto.
- d) pH: Se determinó utilizando el potenciómetro HANNA modelo HI 8424. La determinación se hizo por triplicado.

## **Análisis de la actividad antioxidante**

### **Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)**

Según Brand-Williams *et al.* <sup>(7)</sup>. El ensayo se fundamenta en la reducción de los radicales DPPH en metanol que causa una caída de la absorbancia a 517 nm. La absorbancia disminuye como resultado de un cambio de color de púrpura a amarillo. Se prepararon diluciones del extracto de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze hasta obtener concentraciones de 0,1944 a 2,4667 µg/mL. Después de 30 min en oscuridad se realizaron las lecturas a 517 nm. Se empleó como estándar trolox de Sigma Aldrich. La curva se preparó en concentraciones de 1,25 a 6,25 µg/mL de trolox con un  $R^2= 0,9979$ . Los resultados se expresaron en capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC-DPPH). También se calculó el IC50 (µg de muestra seca/mL). Este valor corresponde a la concentración del extracto que reduce en un 50% la absorbancia de una solución metanólica de DPPH.

### **Método de ABTS (ácido 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)**

Según Re *et al.* <sup>(8)</sup>. Se prepararon diluciones del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. hasta obtener concentraciones de 0,1944 a 3,11 µg/mL. Después de 30 min en oscuridad, las lecturas se realizaron a 734 nm. Se usó como estándar trolox, elaborando curvas de calibración del estándar trolox de 0,7813 a 9,375 µg/mL, con un  $R^2= 0,9982$ . Se calculó el IC50 (µg de muestra seca/mL). Este valor corresponde a la concentración del extracto que reduce en un 50% la absorbancia de una solución de ABTS.

### **Determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu**

La determinación de metabolitos fenólicos totales se cuantificó por el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton *et al.* <sup>(9)</sup>. Se preparó una curva de calibración de ácido gálico cuyo rango de concentración fue de 10 - 80 µg/mL. Para este ensayo se preparó un extracto acuoso al 1%, se calentó en baño maría por 65 °C por 30 minutos, se filtró y a lo obtenido se le realizó una dilución 1 en 100, de esta nueva dilución se tomó 0,5 mL, se le añadió 2,5mL de la solución de Folin-Ciocalteu se agito por 1 minuto y se dejó reposar durante cinco minutos, luego se adicionó 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%, se agitó vigorosamente y se llevó a baño maría a 45 °C por 15 minutos, se cubrió de la luz y se dejó enfriar a temperatura ambiente por 15 minutos. Las absorbancias respectivas fueron medidas a 760 nm en un espectrofotómetro. Las muestras fueron analizadas por triplicado y el contenido de compuestos fenólicos totales fue expresado en mg de ácido gálico/g de tara.

### Análisis estadístico

Todos los parámetros fisicoquímicos, capacidad antioxidante y metabolitos fenólicos fueron realizados por triplicado. Los resultados se expresaron como promedio y desviación estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presenta el estudio fitoquímico que se realizó al fruto de la tara y se encontró carbohidratos, compuestos fenólicos libres, flavonoides, catequinas, antraquinonas, taninos, triterpenos, grupos amino y saponinas; resultados similares a lo obtenido por Callohuari *et al.* Quien hizo su estudio en tara adquiridas del fundo Mostacero del departamento de Tacna. <sup>(10)</sup> y Avilés que encontraron principalmente taninos, compuestos fenólicos y flavonoides. Se evidenció que la capacidad antioxidante de esta planta se debe principalmente a la presencia de taninos, compuestos fenólicos, etc. Es decir, a la sinergia de todos los metabolitos presentes en la planta, además poseen propiedades benéficas atribuidas a sus polifenoles como su carácter astringente, antimicrobiano y antiinflamatorio <sup>(11)</sup>. Estos compuestos tienen la capacidad de secuestrar radicales libres inhibiendo enzimas tales como oxigenasas, lipoxigenasas, ciclooxigenasas, etc. Así como la quelación de metales como el hierro el cual puede formar oxiradicales a través de las reacciones de Fenton, de estas dos formas van a detener la reacción en cadena de las especies reactivas de oxígeno. Los polifenoles van a poseer grupos hidroxilos que van a ser responsables de la inhibición enzimática mediante reacciones con grupos sulfhídrico mientras que el grupo funcionale ceto forma complejos con los aminoácidos de las enzimas <sup>(12)</sup>.

**Tabla 1.** Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze

Constituyente químico	Reactivo	Resultado
<b>Carbohidratos</b>	Molish	++
<b>Compuestos fenólicos libres</b>	Cloruro férrico	+++
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	+++
<b>Catequinas y leucoantocianidinas</b>	Rosenheim	+
<b>Antraquinonas</b>	Borntrager	+
<b>Taninos</b>	Gelatina al 5%	+++
<b>Esteroides y triterpenos</b>	Lieberman-Burchard	+
<b>Grupos aminos primarios y secundarios</b>	Ninhidrina	+
<b>Alcaloides</b>	Reactivo de Dragendorff	-
<b>Grupos carbonilos</b>	Hidroxilamina	-
<b>Saponinas</b>	Espuma	+
<b>Glicósidos</b>	Vainillin-ácido sulfúrico	+

Leyenda

+++ : Abundante

++ : Regular

± : Poco

· : No tiene

Otro estudio realizado por López, *et al.* encontró mayor presencia de flavonoides, glicósidos, compuestos fenólicos y taninos en el extracto acuoso del material vegetal recolectado en Tarma, Picoy y Santa Fe del departamento de Junín <sup>(13)</sup>.

Ayala en estudios realizados en Ayacucho, utilizo un extracto hidroalcohólico al 50 % a los frutos de la *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze recolectado en el distrito de Acos Vinchos de la provincia de Huamanga y observo abundante presencia de fenoles, taninos, quinonas, flavonoides, cumarinas, etc <sup>(14)</sup>.

**Tabla 2.** Resultados de los parámetros fisicoquímicos del extracto de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze

Extracto	DR <sup>(1)</sup>	ST <sup>(2)</sup>	IR <sup>(3)</sup>	BX <sup>(4)</sup>	pH 23.2 °C
	1,0024 ± 0,0000	9,3333 ± 0,0231	1,3342 ± 0,0001	1,0000 ± 0,0000	3,2633 ± 0,0058

Valores (DS ± medio, n=3) a p = 0,005

(1) Densidad relativa: densidad del extracto/densidad del agua a temperatura de 23,2 °C.

(2) Sólidos totales: del extracto mg/ mL, determinado por gravimetría.

(3) Índice de refracción.

(4) Grados Brix: extracto seco disuelto en el solvente a 23.2°C

Los parámetros evaluados fueron la densidad relativa, los sólidos totales, índice de refracción, grados Brix y el pH. Se determinó un pH de 3.26 que se le puede atribuir a la presencia de ácido tánico y polifenoles que se encuentran en sus frutos. Los datos reportados contribuyen a incrementar la información sobre esta especie, además debemos tomar en cuenta que la variabilidad geográfica influye en la composición de sus metabolitos, indicando que los obtenidos de Cajamarca y La libertad son los que tienen mayor cantidad de polifenoles <sup>(3)</sup>. Las características organolépticas del extracto acuoso fueron de color marrón naranja, olor característico y aspecto líquido.

Los resultados obtenidos sobre pH, densidad relativa, índice de refracción y grados Brix son, de acuerdo con la literatura revisada, iniciales, por lo que los datos reportados contribuyen a incrementar la información sobre esta especie.

**Tabla 3.** Contenido de polifenoles totales de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze.

Extracto	CPT <sup>(1)</sup>	DPPH		ABTS	
		IC50 <sup>(2)</sup>	TEAC <sup>(3)</sup>	IC50 <sup>(2)</sup>	TEAC <sup>(3)</sup>
	365,75 ± 1,03	3,38 ± 0,0006	4,51 ± 0,0003	2,19 ± 0,0003	2,14 ± 0,0003

1) Contenido de polifenoles totales: mg de ácido gálico equivalente (EAG)/mg de extracto seco del fruto.

2) Concentración inhibitoria media: µg extracto/mL necesario para reducir al 50 % la concentración inicial del radical DPPH o ABTS.

3) Capacidad antioxidante equivalente a Trolox: µg de Trolox/mg extracto seco.

La evaluación de la capacidad antioxidante del extracto de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. mediante la técnica de DPPH, determinó que el IC<sub>50</sub> 3,38 ± 0,0006 µg/mL y mediante la técnica de ABTS fue IC<sub>50</sub> 4,51 ± 0,0003 µg/mL. La sustancia estándar trolox en el ensayo con DPPH, tuvo un IC<sub>50</sub> de 3,378 ± 0,0003 µg/mL, mientras que en el ensayo con ABTS el IC<sub>50</sub> fue de 18,809 ± 0,0003 µg/mL.

Un estudio realizado por Nuñez encontró un valor de capacidad antioxidante por el método de DPPH de IC50 de 4,52 µg/mL y 5,04 µg/mL para la solución patrón trolox de una muestra de 2 kg provenientes de la provincia de Huanta, región Ayacucho a 2628 metros de altitud, extraída con una solución hidroalcohólica en una proporción de 7:3, la diferencia podría deberse al origen geográfico, además podemos indicar que la presencia de polifenoles le da propiedad antioxidante y los taninos propiedad curtidora y biorremediador <sup>(15)</sup>.

Un estudio realizado por Aviles halló 149 mg EAG/g de muestra proveniente de Ayacucho, de polifenoles totales, y capacidad antioxidante por el método de DPPH de IC50 de 10,1 µg/mL en un extracto acuoso (10 g de muestra en 100 mL de agua) reposando en 2 semanas <sup>(11)</sup>.

Existen diferencias entre los resultados obtenidos y otros estudios. Esto podría deberse a diversos factores que influyen durante su producción y cosecha, ya que se ha descrito que la capacidad antioxidante no proviene sólo de sus componentes, sino también el ambiente, influye en los metabolitos. Sin embargo, en la tara hay que considerar la presencia de metabolitos antioxidantes, como fenoles y flavonoides, cuyo contenido puede ser influido por la altitud y la radiación de la región de origen. <sup>(12)</sup>

Se muestra la cuantificación de polifenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu expresándolo en ácido gálico como 365,75 ± 1,03 mg de ácido gálico por gramo de muestra resultados similares a lo obtenido por Callohuari que obtuvo 383,76 de una muestra tomada en la localidad de Magollo a 150 m.s.n.m de la provincia y departamento de Tacna <sup>(10)</sup>.

## CONCLUSIÓN

Los parámetros fisicoquímicos (densidad relativa, sólidos totales, índice de refracción, grados brix y pH) sirven para los datos de control de calidad, así tener una referencia para próximas investigaciones.

La *Caesalpinia spinosa* presenta alto contenido en polifenoles y taninos. Los resultados obtenidos en el presente estudio de los frutos de la *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze lo hacen con un gran futuro para ser usado en la industria alimentaria, cosmética y/o farmacéutica.

## AGRADECIMIENTO

Al laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional – Q.F. Bertha Jurado Teixeira de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Silva L. Estudio de pre factibilidad para una empresa dedicada a la exportación de polvo de tara, goma de tara y la producción de una gama de productos naturales medicinales derivados de la tara. [Tesis de pregrado]. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú, Facultad de Ciencia e Ingeniería; 2016. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12404/6656>

2. Melo M, Glorio P, Tarazona G. Efecto de la madurez en los componentes de valor comercial (taninos y goma) de tara *Caesalpinia spinosa (molina) kuntze*. Rev Soc Quím Perú [Internet]. 2013; 79(3): 2018-28. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v79n3/a04v79n3.pdf>
3. Martorell O. Efecto antibacteriano del extracto acuoso y etanólico de la *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175 - estudio in vitro. [Tesis de pregrado]. Puno: Universidad Privada de Tacna, Facultad de Ciencias de la Salud; 2020. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en: <http://repositorio.upt.edu.pe/handle/UPT/1634>
4. Goycochea R. Evaluación de taninos y goma del fruto de la tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze provenientes de las lomas de Atiquipa, Arequipa - Perú. [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Ciencias Forestales; 2010. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/419>
5. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. (2016). 3ra. Edición. Departamento de Ciencias-Pontificia Universidad Católica del Perú.
6. Association of Official Analytical Chemists. 2005. Official methods of analysis of the AOAC International. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
7. Brand-Willlliams W, Cuvelier M, Berset C. "Use of free radical method to evaluate antioxidant activity". Lebensm Wiss Technol. 1995; 28: 25-30.
8. 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.
9. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. [Internet]. 1965; 16:144-158. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>
10. Callohuari R, Sandoval M, Huamán O. Efecto gastroprotector y capacidad antioxidante del extracto acuoso de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara", en animales de experimentación. An Fac med. [Internet]. 2017; 78(1): 61-66. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v78n1/a10v78n1.pdf>
11. Avilés R, Carrión J, Huamán J, Bravo M, Rivera D, Rojas N y Santiago J. Actividad antioxidante, polifenoles totales y contenido de taninos de extractos de tara, *Caesalpinia spinosa*. Rev. Per. Quím. Ing. Quím. [Internet]. 2010; 13(2): 5-11. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4588>
12. Fukumoto L, Mazza G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000; 48: 3597-3604.
13. López A, Oré R, Miranda C. *Caesalpinia spinosa*: efecto protector frente a radiación UV en la lipoperoxidación hepática en ratas y detección de fitoconstituyentes. Revista de Investigación Científica. [Internet]. 2020; 40 (1): 13 – 20. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/2990/3318>
14. Ayala E. Efecto genotóxico in vitro de plantas medicinales antibacterianas *Spartium junceum* L. "retama", *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze "tara" y *Eucaliptus globulus* Labill "eucalipto". [Tesis de pregrado]. Huamanga: Universidad Nacional

- de San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias Biológicas; 2013. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en:  
[https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915853/efecto-genotoxico-in-vitro-de-plantas-medicinales-antibacterian\\_hgPJVjM.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915853/efecto-genotoxico-in-vitro-de-plantas-medicinales-antibacterian_hgPJVjM.pdf)
15. Nuñez W, Quispe R, Ramos N, Castro A, Gordillo G. Actividad antioxidante y antienzimática *in vitro* y antiinflamatoria *in vivo* del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* “tara”. Ciencia e Investigación. [Internet]. 2016; 19(1): 35-42. [Citado 24 de junio 2023]. Disponible en:  
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13626/12030>



