

Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos del extracto fluido de hojas y tallos de *Baccharis genistelloides*

Antioxidant capacity in vitro of the total flavonoids obtained from the fluid extract of leaves and stems of *Baccharis genistelloides*

Bianchina Figueroa-Giorffino^{1,*}; Segundo Guillermo Ruíz-Reyes¹; Anghela Gutierrez²

- 1 Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo Av Juan Pablo II s/n Ciudad Universitaria, Trujillo Perú.
- 2 Facultad de ciencias Agropecuarias, Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo Av Juan Pablo II s/n Ciudad Universitaria, Trujillo Perú.

*Autor correspondiente: bian_figueroa@hotmail.com (B. Figueroa-Giorffino).

Fecha de recepción: 30 05 2018. Fecha de aceptación: 22 06 2018

RESUMEN

En la actualidad existe un gran interés por compuestos bioactivos de origen natural como auxiliares en la prevención de enfermedades, por su actividad biológica al proporcionar bienestar y salud. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales extraídos de las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides*. Se seleccionaron ejemplares de la planta en óptimas condiciones, se preparó y purificó un extracto fluido por el método descrito por Miranda y Cuellar. Se hizo la determinación cualitativa de flavonoides totales mediante la reacción de Shinoda y se cuantificó por el método espectrofotométrico de Kostennikova Z, utilizándose Quercetina como estándar a 256 nm. La capacidad antioxidante se determinó mediante el método descrito por Brand Williams se utilizó el extracto fluido de las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides* a diferentes concentraciones, los resultados fueron expresados en porcentaje de captura del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH°). Se encontró una concentración de flavonoides totales de 0,64% ± 0,0116, determinándose que la capacidad antioxidante es directamente proporcional a la concentración de flavonoides. Se concluye que *Baccharis genistelloides* contiene flavonoides con actividad antioxidante proporcional a su concentración.

Palabras clave: *Baccharis genistelloides*; Extracto fluido, Flavonoides totales; Quercetina; Capacidad antioxidante.

ABSTRACT

At present, there is a great interest in bioactive compounds of natural origin as auxiliaries in the prevention of diseases, due to their biological activity in providing well-being and health. The objective of this work was to determine the in vitro antioxidant capacity of the total flavonoids extracted from the leaves and stems of *Baccharis genistelloides*. Specimens of the plant were selected in optimal conditions, a fluid extract was prepared and purified by the method described by Miranda and Cuellar. The qualitative determination of total flavonoids was made by the Shinoda reaction and quantified by the Kostennikova Z spectrophotometric method, using Quercetin as standard at 256 nm. The antioxidant capacity was determined by the method described by Brand Williams, using the fluid extract of the leaves and stems of *Baccharis genistelloides* at different concentrations, the results were expressed in percent capture of the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH°). A concentration of total flavonoids of 0.64% ± 0.0116 was found, determining that the antioxidant capacity is directly proportional to the concentration of flavonoids. It is concluded that *Baccharis genistelloides* contains flavonoids with antioxidant activity proportional to their concentration.

Keywords: *Baccharis genistelloides*; fluid extract; total flavonoids; quercetin; antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día está en auge el mercado de complementos dietéticos y nutracéuticos que contengan compuestos capaces de inhibir radicales libres. Una alternativa válida son los vegetales quienes tienen una amplia variedad de compuestos con capacidad de atrapar especies reactivas del oxígeno (EROS) como son vitaminas, carotenoides, compuestos nitrogenados (alcaloides, aminos, betalainas) e incluso terpenoides; quizá los metabolitos más reconocidos por su actividad antioxidante son los de naturaleza fenólica (Polifenoles): ácidos fenólicos flavonoides, quinonas, cumarinas, lignanos, estilbenos y taninos. (Bandonien y Murkovicub, 2002; Parejo et al., 2000)

La *Baccharis genistelloides* (carqueja) es una planta que se utiliza comúnmente en la medicina popular en varios países de América y Sur de China, pues tiene muchas propiedades, entre ellas se encuentran las hepatoprotectoras, eficiencia en trastornos estomacales y antitérmico (Melo et al., 2001; Camargo, 1985; Costa, 1978).

En el Perú la carqueja es una especie arbórea que se cultiva en las partes altas de los Andes. La carqueja es una hierba rígida que mide hasta 0,5 m de alto. Llama la atención sus tallos aplanados con aspecto de un cactus (Ulloa et al., 2008)

Las plantas son consideradas un laboratorio biosintético que elabora metabolitos primarios y secundarios que les permite crecer, multiplicarse defenderse y sobrevivir. Los metabolitos primarios como los carbohidratos, proteínas, lípidos; participan en la actividad celular de todo ser vivo. Además, sintetizan otro tipo de compuestos como los esteroides, polisacáridos flavonoides, cumarinas, taninos, etc. El metabolismo secundario de las plantas puede definirse como un nivel funcional del metabolismo que, aunque no es indispensable para el crecimiento y desarrollo vegetal, lo es para la supervivencia de la especie (Sampietro et al., 2014).

Las sustancias fenólicas constituyen un grupo muy numeroso de metabolitos secundarios, existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los principales

grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos, (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes, fenólicos y flavonoides (Barberan, 2003).

Los flavonoides tienen capacidad para actuar como antioxidantes y captar radicales libres, en virtud de sus propiedades reductoras de los múltiples grupos hidroxilos sustituyentes de sus anillos aromáticos y su capacidad para deslocalizar el radical resultante dentro de su estructura, al generar un radical fenoxilo relativamente estable. Todos los flavonoides son estructuras hidrolizadas en sus anillos aromáticos, y son por lo tanto estructuras polifenólicas (Quiñones, 2012). Se conoce como 10 clases de flavonoides (chalconas, flavonas, flavanoles, flavononas, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas isoflavonoides, pterocarpanos, etc).

En su relación con el hombre, los flavonoides actúan como antioxidantes naturales, es decir, tienen la capacidad de secuestrar y neutralizar los radicales libres, especies químicas muy reactivas que fácilmente conducen a reacciones incontroladas, resultando en diversas formas de daños oxidativos sobre las moléculas, organelas y diversas células y tejidos; causando su degeneración, envejecimiento, pérdida de su función y otras formas importantes de daño celular. Por lo tanto los flavonoides juegan un papel importante en la prevención de varios procesos fisiopatológicos asociados con el estrés oxidativo y presencia de radicales libres, tales como el cáncer y diversas enfermedades neurodegenerativas (alzhéimer), cardiovasculares (hipertensión arterial) y metabólicas (diabetes mellitus II) (Rodríguez et al., 2001)

La finalidad de esta investigación no es descubrir un nuevo fármaco u obtenerlo; lo que se trata demostrar la actividad antioxidante *in vitro* de los flavonoides totales obtenidos de los tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, y comprobar el efecto farmacológico que se le atribuye; y de ser así recomendar su uso en la prevención de enfermedades producidas por el estrés oxidativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

1 kg de hojas y tallos de *Baccharis genistelloides*, recolectadas a 2674

m.s.n.m. Distrito de Contumazá, provincia de Contumazá, región Cajamarca.

Reactivos y solventes:

2,2-difenil-1- picrilhidrazil (DPPH*) Lab. Sigma, Ácido sulfúrico 98% de pureza calidad Merck, Alcohol etílico de 96° GL, Quercetina Lab. Merck.

Metodología

Recolección de la especie según Miranda y Cuellar (2000). Las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides* se recolectó del distrito de Contumazá ubicado a 2674 m.s.n.m., en la provincia de Contumazá del departamento Cajamarca durante el mes de Febrero 2015.

Los tallos recolectados se empaquetaron en papel Kraft, dentro de una prensa de madera, para favorecer su conservación durante el traslado hasta el laboratorio de Farmacognosia y Farmacobotánica.

Se llevó un ejemplar de la planta al Herbarium Truxillense (HUT) para su identificación y posterior verificación taxonómica según el sistema filogenético de la especie. (N° Voucher 58067)

En esta etapa se descartó toda la parte de la muestra que no reunió las condiciones necesarias para su utilización; se eliminó los tallos secos, marchitos, que estuvieron cubiertas por hongos, además de materias extrañas como raíces, tierra, etc.

Luego de la separación de las sustancias extrañas, se procedió a lavar el material vegetal con agua potable a chorro y después con agua destilada.

Se colocaron los tallos en bolsas hechas de papel Kraft con orificio, luego se llevaron a una estufa a una temperatura menor de 40 °C y se realizaron determinaciones de peso cada 12 horas hasta valores constantes.

El material seco, se almacenó en frascos de color ámbar a temperatura ambiente.

□ Pulverización y tamizaje de la muestra

Se pulverizó los tallos secos con la ayuda de un molino y luego se tamizó con la ayuda de un set de tamices hasta obtener partículas homogéneas de tamaño de 5 mm. Logrando que la muestra llegue a tener una consistencia fácil.

Luego se preparó extracto fluido de carqueja según Miranda y Cuellar (2000).

Se procedió a pesar 250 g de hojas y tallos secos pulverizados, se humedeció con el menstruo (etanol 70° GL), dejándose

reposar por 4 h, bien tapado adecuada humectación evitando pérdida del menstruo por evacuación.

En el equipo de percolación, que en su parte inferior se colocó una capa fina de algodón humedecida con el menstruo, se va añadiendo la droga húmeda en capas, presionando la misma de igual forma de modo que no den espacios vacíos, y en la parte superior se colocó papel filtro, sobre la cual se vierte arena lavada para evitar y fijar la descomposición de la droga por el menstruo durante el proceso, se cerró el lixiviador dejándose macerar por un periodo de 10 días para su mayor concentración, luego se procedió a percolar a velocidad constante e 20 a 60 gotas/min hasta obtener un volumen equivalente al 70% (175 mL) guardándose en un frasco ámbar, se continuó percolando hasta que el ensayo de cloruro férrico realizado a una alícuota del extracto dé una coloración azul tenue y el volumen obtenido se concentra en la estufa a 40°C a la cantidad equivalente al 30% (75 mL) del extracto, lo cual se reunió con la primera fracción obteniéndose un extracto madre de 250 mL.

Tamizaje Fitoquímico del extracto fluido "Prueba de la Gota (Lock Sing de Ugaz, 2006). Se evaporó el solvente del extracto fluido, y el residuo se redisolvió en los solventes necesarios (diclorometano, etanol, agua, agua ácida) para la realización de los ensayos.

Extracto diclorometánico: Identifica compuestos de muy baja polaridad como: Esteroides, Quinonas.

Extracto etanólico: Identifica compuestos de polaridad muy variada, como: Esteroides, Alcaloides, Flavonoides y Taninos.

Extracto acuoso - ácido: Identifica compuestos básicos, como: Alcaloides.

Extracto acuoso: Identifica compuestos de alta polaridad, como: Flavonoides, Leucoantocianidinas, Saponinas, Taninos.

Cuantificación de flavonoides totales del extracto fluido de Baccharis genistelloides mediante Espectrofotometría UV visible Por el método de Kostennikova Z.

Este método se basa en la estructura de los flavonoides que tienen la presencia de grupos Cromóforos y estos presentan absorbancias características en el UV.

Preparación de la muestra

Hidrólisis de Flavonoides: Se midió 20 mL del extracto fluido a un balón y se llevó a reflujo con 20 mL de ácido sulfúrico al 10 % durante dos horas. (Miranda y Cuellar, 2000)

Purificación de los Flavonoides totales:

Se colocó la muestra en un embudo de Decantación de 250mL ,añadiendo 20mL alcohol de 96°, dejando pasar gota a gota a un vaso de precipitación de 1000mL con agua destilada hirviendo, luego se llevó a refrigeración por 24 horas, se filtró al vacío, lavando el residuo con 3 volúmenes sucesivos de 50mL de agua destilada helada, se llevó el papel de filtro que contiene los flavonoides totales a la estufa de 40 °C por 24 h, luego se solubiliza el contenido del papel de filtro con 100 mL de etanol de 96°GL caliente el cual se filtra, el filtrado se dejó caer gota a gota sobre un vaso de precipitación de 2000 mL de agua destilada hirviendo hasta disminuir a 50% del volumen y se repitió los pasos anteriores por 3 veces hasta que se obtuvo los flavonoides purificados en forma de cristales (Quintanar-Isaias et al., 2008).

Preparación de la Solución Problema

Los cristales obtenidos se diluyo en etanol de 96°C caliente, luego se filtró y se lavó el papel de filtro con etanol caliente con 5 porciones de 10mL, se aforó a 100mL de éste se tomó un volumen de 1mL y se aforó 10mL con etanol al 96% V/V de este aforo se tomó tres alícuota de 3mL aproximadamente, y de cada alícuota se obtuvieron 3 lecturas de absorbancias a 256 nn en el espectrofotómetro (Miranda y Cuellar, 2000).

Preparación de la Solución Patrón según Miranda y Cuellar (2000) se pesó 80 mg de Quercetina patrón y disolvieron con c.s.p. 100 mL de etanol a 96% V/V; para obtener una concentración de 800 ppm.

Se midió 2 mL de la solución madre y se aforó a 100 mL con etanol de 96°GL para obtener una solución de 1,6ppm. y luego se realizó la lectura a una absorbancia de 256 nm en el Espectrofotómetro.

Preparación de soluciones diluidas de la muestra patrón para la curva de calibración.

De la Solución patrón se midió volúmenes de: 2; 4; 6; 8; 10 mL y se aforó a 10 mL de alcohol de 96%V/V para obtener concen-

traciones de 0,32; 0,64; 0,96; 1,28; 1,6 ppm. Respectivamente.

Luego se realizó una lectura con la disolución de 1,6 Ppm en el espectrofotómetro que permitió conocer el pico más alto correspondiente a la longitud de máxima absorbancia (λ Max) a la que absorbe la quercetina lo cual se leyeron todas las muestras.

Posteriormente se realizó 3 lecturas de las absorbancias de concentraciones conocidas. En el espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 256 nm para obtener la ecuación de la recta de la curva de calibración (Rivero y Betancort, 2006)

Preparación de la Solución Blanco

Se preparó etanol a 50% V/V como solución blanco, se tomó una alícuota de 3 mL aproximadamente para el blanco del espectrofotómetro UV-Visible (Gracia-M, 2000).

Determinación de la capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos del extracto fluido de las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides*

El fundamento del método descrito por Brand Williams et al, consiste en que el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta (Murillo et al., 2006), decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia captadora de radicales libres, la absorbancia es medida espectro-fotométricamente a 520 nn. La diferencia de absorbancias permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres (Espinosa-Osornio et al., 2002).

Preparación del Reactivo: Solución 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH).

Se preparó una solución DPPH con etanol de 96° GL a una concentración 0,1mM (0,03943mg /mL) (Miranda y Cuellar, 2000)

□ **Preparación de la recta de calibración para la solución de radical DPPH°**

Se preparó una solución madre de DPPH° 0,1mM en una fiola de 250mL recubierto con papel aluminio, de esta solución se midió volúmenes de 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; mL en fiolas de 10 mL que fueron aforadas con etanol de 96°GL, para obtener concentraciones de 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,70; 0,08; 0,09; 0,10 mM respectivamente (tabla 1).

Luego se realizó un barrido espectrofotométrico con la solución DPPH° 0,1mM para encontrar la longitud de onda de máxima absorbancia, el cual es de 520 nm (Khan et al., 2013)

Se realizó tres lecturas de absorbancias en el espectrofotómetro THERMO modelo GENESYS 10 UV a 520 nm, de las cuales se obtiene un promedio, utilizando un blanco que consiste en etanol de 96° GL.

Luego se graficó las concentraciones versus las absorbancias para obtener la recta de calibración (Silva, 2009; Miranda y Cuellar, 2000).

Determinación de los porcentajes de captura del radical DPPH°

En un set de 10 fioles, (problema) se adicionó en cada uno de ellos 10 mL de solución de DPPH° 0,1mM (Miranda y Cuellar, 2000)

Con una micropipeta se tomó alícuotas de 1 mL de cada concentración de solución etanólica de flavonoides totales presentes y se enfrentó a la solución de DPPH° 0,1 Mm.

Se realizaron tres lecturas de cada sistema a una absorbancia de 520 nm en el espectrofotómetro

Se preparó un control (que consiste en 10mL de solución de DPPH° 0,1mM) y se procedió a leer la absorbancia de 520 nm en el espectrofotómetro.

Como blanco se utiliza etanol de 96°GL.

Posteriormente, se utiliza los valores de absorbancia de las fioles problema y la absorbancia de la fiola control, para calcular el porcentaje de radicales DPPH° (Miranda y Cuellar, 2000)

Se procedió a calcular el porcentaje de radicales DPPH° capturado, con la siguiente fórmula:

$$\% \text{captura radicales DPPH} = \frac{\text{Abs. Control m.} - \text{Abs. muestra}}{\text{Abs. control m.}} \times 100$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo de esta investigación fue cuantificar los flavonoides totales expresados como Quercetina, determinar la capacidad antioxidante, frente al radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) obtenidos del extracto fluido de la hojas y tallos de *Baccharis genistelloides*.

En la Tabla 1 se observa los resultados para la identificación cualitativa de flavonoides totales, se hizo la reacción de Shinoda donde se evidenció la presencia de los flavonoides a través de una coloración rojiza, esta coloración se debe a que en esta reacción el magnesio metálico es oxidado por el ácido clorhídrico concentrado, dando como producto al hidrogeno molecular que es eliminado en forma de gas y el cloruro de magnesio, que es el que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características. El magnesio divalente, actúa sobre el grupo carbonilo de dos flavonas, produciendo una coloración roja debido a que el magnesio divalente intensifica la coloración por estar doblemente coordinado (Gennaro, 2010). Usando la curva estándar se calculó la concentración de flavonoides totales expresado como Quercetina de hojas y tallos de *Baccharis genistelloides*.

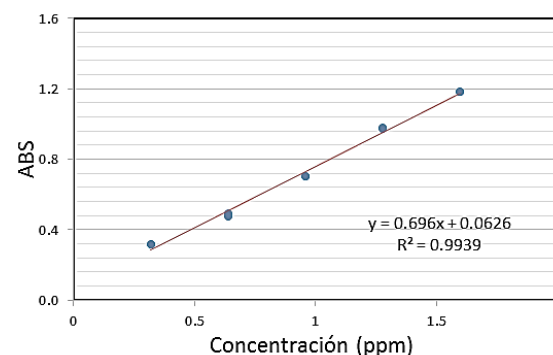


Figura 1. Curva de calibración de Quercetina.

Tabla 1. Identificación cualitativa de flavonoides en tallo de *Baccharis genistelloides* en diferentes extractos

Extracto fluido	Ensayo de identificación	Coloración (col) precipitación (pp)	Metabolito secundario	Resultados
Etanólico	Shinoda	Col: Rojo (magenta, azul o verde)	Flavonoides	+++
Acuoso	Shinoda	Col: Rojo(magenta azul o verde)	Flavonoides	+++

Tabla 2. Concentración de flavonoides totales expresados como quercetina de las hojas y tallos de extracto fluido de *Baccharis genistelloides*

	Muestra	Dilut. Factor	Concentración ppm (1.6)	Abs<256nm>	Promedio	Flavonoides Totales (%)
1	Patrón	100,000	1,53960	1,15610		
2		100,000	0,36535	0,27432		
3	1	100,000	0,36866	0,27681	0,28018	0,625220 %
4		100,000	0,38542	0,28940		
5		100,000	0,38453	0,28873		
6	2	100,000	0,38502	0,28909	0,28880	0,649990 %
7		100,000	0,38433	0,28857		
8		100,000	0,38274	0,28738		
9	3	100,000	0,38518	0,28922	0,28875	0,649866 %
10		100,000	0,38577	0,28966		

A medida que aumenta la concentración del estándar de quercetina, aumenta la absorbancia, indicador de que las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides* evaluados contiene 0,64% de Flavonoides Totales expresados como Quercetina.

En la Tabla 2 se presenta la concentración de flavonoides totales expresados como Quercetina contenidos en el extracto fluido de *Baccharis genistelloides*, en promedio se encontró 0,64%. La cuantificación se realizó mediante espectrofotometría UV/Visible a 256 nm, previamente se preparó una curva de calibración, utilizando Quercetina como patrón tal como se puede observar en la Figura 1. No existen trabajos de investigación sobre la cuantificación de flavonoides totales de *Baccharis genistelloides*, pero si existen trabajos en otro tipo de plantas tales como el realizado en las hojas de *Piper auducum* (matico) procedentes de la provincia de San Marcos en el que se obtuvo 0.84%, que como se observa contiene mayor cantidad que *Baccharis genistelloides*. (Miranda, 2000), asimismo según Muñoz (2015) encontró 0,44 % flavonoides totales en *Bixa Orellana* (achiote) procedentes de la provincia de Otuzco, resultado que es inferior al encontrado en *Baccharis genistelloides*.

Usando la curva calibración del DPPH se calculó la capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos del extracto fluido de las hojas y tallos de *baccharis genistelloides*.

En la Figura 2 se presenta la curva de calibración, obtenida para determinar la

capacidad antioxidante del extracto fluido de *Baccharis genistelloides*, cuyos resultados fueron expresados en porcentaje de captura de radicales libres DPPH, los cuales se presentan en la Tabla 3 y figura 3 observándose que a mayor concentración del extracto fluido (mayor concentración de flavonoides totales) enfrentados con la solución de DPPH, mayor son los porcentajes de captura de radicales libres DPPH. Se observa que para la mayor concentración de flavonoides totales ($3,64E-04$ mg/mL), se obtuvo un 97,37% de captura de radicales DPPH°.

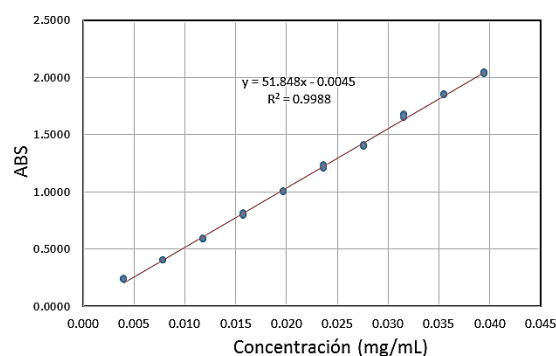
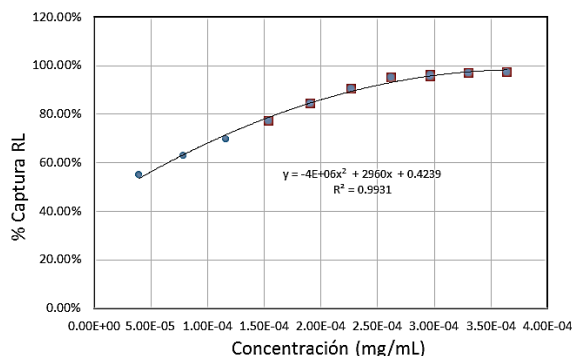
**Figura 2.** Curva de calibración DDPPH.**Figura 3.** % Captura radicales libres.

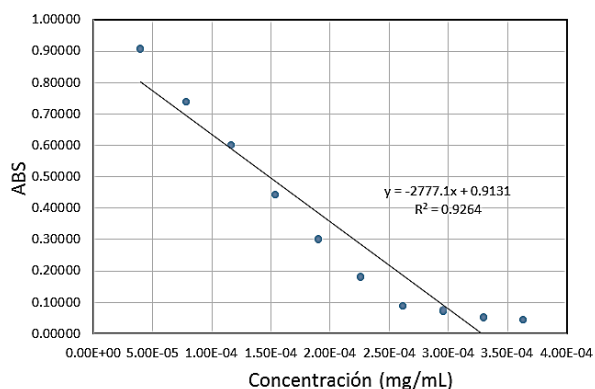
Tabla 3. Lecturas de los porcentajes de captura de radicales libre de DPPH de carqueja

N° Muestra	Volumen Extracto Fluido 0.4 % v/v (uL)	Volumen DPPH 0.1 mM (mL)	Concentración DPPH inicial (mg/ml)	Concentración Extracto Fluido concentrado (mg/ml)	Absorbancia		Concentración DPPH residual según recta (mg/ml)	Captura de Radicales de DPPH	
					Abs. (520nm)	Promedio		%	Promedio
Estándar	0	10	0,03943	0,00E+00	2,02893		0,0392	0,54%	
	0	10	0,03943	0,00E+00	2,04639		0,0396	-0,31%	
	0	10	0,03943	0,00E+00	2,04294		0,0395	-0,15%	
	0	10	0,03943	0,00E+00	2,03793		0,0394	0,10%	
1	100	10	0,03904	3,96E-05	0,9070		0,0176	54,97%	
	100	10	0,03904	3,96E-05	0,9073	0,906426667	0,0176	54,95%	55,00%
	100	10	0,03904	3,96E-05	0,9049		0,0175	55,07%	
2	200	10	0,03866	7,84E-05	0,7371		0,0143	63,00%	
	200	10	0,03866	7,84E-05	0,7367	0,736736667	0,0143	63,02%	63,02%
	200	10	0,03866	7,84E-05	0,7364		0,0143	63,04%	
3	300	10	0,03828	1,17E-04	0,5991		0,0116	69,59%	
	300	10	0,03828	1,17E-04	0,5989	0,599213333	0,0116	69,60%	69,59%
	300	10	0,03828	1,17E-04	0,5997		0,0117	69,56%	
4	400	10	0,03792	1,54E-04	0,4432		0,0086	77,23%	
	400	10	0,03792	1,54E-04	0,4415	0,442213333	0,0086	77,32%	77,28%
	400	10	0,03792	1,54E-04	0,4420		0,0086	77,29%	
5	500	10	0,03755	1,90E-04	0,2998		0,0059	84,37%	
	500	10	0,03755	1,90E-04	0,2989	0,299776667	0,0059	84,42%	84,37%
	500	10	0,03755	1,90E-04	0,3006		0,0059	84,33%	
6	600	10	0,03720	2,26E-04	0,1796		0,0036	90,45%	
	600	10	0,03720	2,26E-04	0,1798	0,17927	0,0036	90,45%	90,47%
	600	10	0,03720	2,26E-04	0,1784		0,0035	90,52%	
7	700	10	0,03685	2,62E-04	0,0880		0,0018	95,16%	
	700	10	0,03685	2,62E-04	0,0883	0,087946667	0,0018	95,15%	95,16%
	700	10	0,03685	2,62E-04	0,0876		0,0018	95,18%	
8	800	10	0,03651	2,96E-04	0,0685		0,0014	96,14%	
	800	10	0,03651	2,96E-04	0,0693	0,071441667	0,0014	96,10%	95,99%
	800	10	0,03651	2,96E-04	0,0765		0,0016	95,72%	
9	900	10	0,03618	3,30E-04	0,0502		0,0011	97,08%	
	900	10	0,03618	3,30E-04	0,0508	0,050964333	0,0011	97,05%	97,04%
	900	10	0,03618	3,30E-04	0,0519		0,0011	96,99%	
10	1000	10	0,03585	3,64E-04	0,0445		0,0009	97,36%	
	1000	10	0,03585	3,64E-04	0,0442	0,044316667	0,0009	97,38%	97,37%
	1000	10	0,03585	3,64E-04	0,0443		0,0009	97,38%	

Tabla 4. Capacidad Antioxidante de la carqueja

N°	Patrón	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentración Extracto Fluido (concentrado)	0.00E+00	3.96E-05	7.84E-05	1.17E-04	1.54E-04	1.90E-04	2.26E-04	2.62E-04	2.96E-04	3.30E-04	3.64E-04
% Captura de Radicales de DPPH	1	54.969995	63.000578	69.590251	77.228019	84.372260	90.452862	95.161405	96.143111	97.083641	97.363889
	2	54.954186	63.020535	69.602846	77.315005	84.417969	90.445085	95.145442	96.102012	97.051066	97.380353
	3	55.072256	63.036500	69.562038	77.285501	84.328606	90.518190	95.178205	95.719926	96.994126	97.376210

En la Figura 3 Se demuestra que mientras mayor es la concentración de extracto fluido, mayor es la captura de radicales libre. Determinación de la cantidad necesaria de la muestra (antioxidante) para reducir en un 50% la concentración inicial del radical DPPH (IC50).

**Figura 4.** Absorbancia vs Concentración.

$$m \quad -2777.1$$

$$b \quad 0.9131$$

IC 50	0.00015
-------	---------

El IC50 del DPPH° mide la efectividad de un compuesto para inhibir una actividad biológica y/o bioquímica. En esta investigación se midió la concentración del extracto fluido de *Baccharis genistelloides* necesarios para disminuir en un 50% la concentración inicial de los radicales libres (DPPH+), teniendo en cuenta que a menor valor de IC50 es mayor la actividad antioxidante.

Existen trabajos de investigación que confirman la capacidad antioxidante de esta especie tal como la investigación realizada por Justil, et al. (2010) quienes trabajaron con el extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* procedente de Junín, encontrando un efecto quimio-protector sobre el cáncer de colon en ratas inducido con DPPH°.

Bartolo et al. (2010) demostraron la capacidad antioxidante del decocto de *Zea mays* L, encontraron que, a medida que aumenta la concentración del extracto, aumenta el porcentaje de

inhibición de DPPH, siendo el valor máximo de inhibición encontrado de 87,02%; que comparado con el trabajo realizado en la presente investigación es inferior, en la que se obtuvo un 97,37% de inhibición de DPPH, lo que demuestra la gran capacidad de captar radicales libres de extracto utilizado.

Rojas et al. (2009) obtuvieron un valor máximo de porcentaje de inhibición de DPPH* para un extracto hidroalcohólico de la hoja de *Piper aducum* procedente de Cajamarca de 49.98%, este resultado como se observa es inferior al obtenido en el extracto de *Baccharis genistelloides*. Es muy importante también conocer el IC50, cantidad necesaria de la muestra que contiene antioxidantes para reducir en un 50% la concentración inicial del radical DPPH°, mide la efectividad de un compuesto para inhibir una actividad biológica, en esta investigación se encontró un IC50 de 0,00015mg/mL, (Figura 4). Es necesario resaltar la importancia de este resultado ya que con esta pequeña concentración del extracto de *Baccharis genistelloides* se puede conseguir una gran actividad antirradicalaria.

CONCLUSIONES

Las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides* "carqueja" contienen una concentración 0,64% de flavonoides totales expresados como quercetina. El porcentaje de captación de DPPH es proporcional a la concentración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bandonien, D.; M. Murkovicub. 2002. The detection of radical scavenging compounds in crude extract of borage (*Borago officinalis* L.) by using an on-line HPLC- DPPH method, *J. Biochem. Biophys. Methods*: 53 (1-3), 65-70.
- Bartolo, R., Chávez, C. 2010. Determinación de la capacidad antioxidante in vitro del decocto de la corona de *Zea mays* L. (variedad morado) del Distrito de Cajabamba, departamento de Cajamarca. Tesis para obtener el grado de bachiller en Farmacia y Bioquímica, Trujillo-Perú, Universidad Nacional de Trujillo. 12-16 pp.

- Barberan, T. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. Instituto Danone. Alimentación, nutrición y salud. Argentina 11(4-5): 25-35.
- Camargo, M.T. 1985 Medicina popular: aspectos metodológicos para pesquisa, garrafada, objeto de pesquisa, componentes medicinals de origem vegetal, animal e mineral. São Paulo: ALMEd.
- Costa, A. 1978. Farmacognosia (2° Edición ed., Vol. II). La Fundación Calouste Gulbenkian.
- Espinosa-Osornio, G.; Vargas - Simon, G.; Engleman, M. 2002. Contribución al estudio de la anatomía foliar del icaco (*Chrysobalanus icaco* L.). *Biagro* 14(1): 29-36.
- FAO. 2004. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación, OIT. El futuro de la agricultura depende de la biodiversidad.
- Gennaro, A. 2010. Farmacia de Remington. 19ava ed. Panamericana Argentina. 3:45-51
- Gennaro, A. 2003. Remington: Farmacia. 20 edición. Editorial Panamericana Buenos Aires-Argentina.
- Gracia, M. 2000. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extracto naturales. *Universidad Autónoma de Queretaro*, 23: 46-52.
- Justil, H.; Arroyo, J.; Valencia, J. 2010. Marcha fotoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis genistelloides*. *Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. 71(2): 88-96.
- Melo, S.; Soares, S.; Da Costa, R.; Da Silva, C.; De Oliveira, M.; Bezerra, R. 2001. Efecto del *Cymbopogon*, *Maytenus ilicifolia* y extractos *Baccharis genistelloides* contra el daño oxidativo de Cloruro de Estaño en *Escherichia coli*. *Mutation Research/Toxicología Genética y Mutagénesis Ambiental* 496 (1-2): 33-38.
- Khan, Z.; Chandy, R.; Metwali, K. 2013. *Candida albicans* strain carriage in patients and nursing staff of an intensive care unit: a study of morphotypes and resistotypes. *Mycoses* 46: 292-300.
- Lock Sing de Ugaz, O. 1994. Investigación fotoquímica. Lima: PUCP - FONDO EDITORIAL.
- Miranda, M.; Cuellar, A. 2000. Manual de prácticas de laboratorio: Farmacognosia y productos naturales. Habana- Cuba.
- Murillo, E.; Tique, M.; Ospina, L.; Lombo, O. 2006. Evaluación preliminar de la actividad hipoglicemante en ratones diabéticos por aloxano y capacidad antioxidante invitro de extractos de *Bauhinia kalbreyeri*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* 35: 120-129.
- Quintanar-Isaias, A.; Lopez, B.C.; Vander, M.M. 2008. El uso del floema secundario en la elaboración de papel amate. *Centro de investigaciones tropicales Universidad Veracruzana*, 38-42.
- Rivero, A.; Betancort, J. 2006. Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas. *Universidad de las Palmas de Gran Canaria España*, 21: 42-49.
- Sampietro, A.; Isla, M.; Quiroga, E; Vaituone, M. 2014. Importancia del estudio fitoquímico en la formación del profesional farmacéutico. *Acta Farm. Bonarense* 16 (4): 245-9.
- Quiñones, M. 2012. Los polifenoles. Compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria. España*.
- Rodríguez, J.; Menéndez, Y.; Trujillo, M. 2013. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar* 30 (1): 15-20.
- Parejo, I. 2000. Evaluation of scavenging activity assessed by Co (II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 44 (3): 435 – 438.
- Rojas, M.; Rumay, A. 2009. Determinación de la actividad antioxidante in vitro del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Piper aduncum* procedente de la provincia de San Marcos. Departamento de Cajamarca. Tesis para obtener el grado de bachiller en Farmacia y Bioquímica, Trujillo-Perú, Universidad Nacional de Trujillo. 10-14 pp.
- Ulloa, C.; Alvarez, S.; Peter, M.; Minga, J.; Minga, D. 2008. Guía de 100 plantas silvestres del páramo del parque nacional cajas.