

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Contenido de antraquinonas en hojas y flores de
Senna alata “mutuy” y *Senna birostris* “mutuy”,
Ayacucho 2016.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR EL:
Bach. CAMPOS ARCCE, Roger

AYACUCHO - PERÚ
2016

DEDICATORIA

A Dios, a mis padres y
hermanos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales para el desarrollo de nuestro país.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica por acogerme en sus aulas y a los profesores quienes con su enseñanza guiaron mi formación profesional.

A mi asesor, QF. Enrique Javier AGUILAR FELICES, Docente Asociado adscrito al Departamento Académico de Medicina Humana de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por sus orientaciones y recomendaciones a lo largo de este trabajo.

A todas las personas que apoyaron y confiaron en el proyecto de investigación que hoy se ve materializada en esta tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
III. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1. Ubicación	11
3.2. Población y muestra	11
3.2.1. Población	11
3.2.2. Muestra	11
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	11
3.3.1. Recolección de la muestra	11
IV. RESULTADOS	15
V. DISCUSIÓN	19
VI. CONCLUSIONES	23
VII. RECOMENDACIONES	25
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
IX. ANEXOS	29

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Heterósidos antracénicos	9
Tabla 2. Antraquinonas de <i>Senna alata</i>	10
Tabla 3. Condiciones cromatográficas para la cuantificación de antraquinonas de las flores y hojas de <i>Senna alata</i> y <i>Senna birostris</i> por HPLC. Lima 2016.	14

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Biosíntesis de antraquinonas	6
Figura 2. Procesos de oxidación y reducción de las antraquinonas	7
Figura 3. Porcentaje de contenido de antraquinonas totales presentes en las flores y hojas de <i>Senna alata</i> y <i>Senna birostris</i> determinado por método espectrofotométrico. Ayacucho 2016.	17
Figura 4. Contenido de 1,8-dihidroxiantraquinona en las flores y hojas de <i>Senna alata</i> y <i>Senna birostris</i> determinado por HPLC. Lima 2016.	18

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>Senna alata</i> .	30
Anexo 2. Certificado de identificación botánica de <i>Senna birostris</i> .	31
Anexo 3. Antraquinonas totales y contenido de 1,8-dihydroxiantraquinona en las flores y hojas de <i>S. alata</i> y <i>S. birostris</i> , determinados por espectrofotometría (Ayacucho 2016) y HPLC (Lima 2016), respectivamente.	32
Anexo 4. Cromatogramas y picos del estándar 1,8-dihydroxiantraquinona obtenidos por HPLC. Lima 2016.	33
Anexo 5. Curva de calibración de 1,8-dihydroxiantraquinona. Lima 2016.	36
Anexo 6. Cromatogramas de las muestras de flores de <i>Senna alata</i> obtenidos por HPLC. Lima 2016.	37
Anexo 7. Cromatogramas de las muestras de hojas de <i>Senna alata</i> obtenidos por HPLC. Lima 2016.	38
Anexo 8. Cromatogramas de las muestras de flores de <i>Senna birostris</i> obtenidos por HPLC. Lima 2016.	39
Anexo 9. Cromatogramas de las muestras de hojas de <i>Senna birostris</i> obtenidos por HPLC. Lima 2016.	40
Anexo 10. Matriz de consistencia	41

RESUMEN

Las antraquinonas son un grupo importante de metabolitos secundarios que se utilizan en la producción de medicamentos para el tratamiento de gingivitis, estomatitis, úlceras bucales, inflamación de la mucosa y condiciones periodontal, siendo el género *Senna* uno de los más importantes reservorios de antraquinonas. El objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de antraquinonas en las hojas y flores de *Senna alata* y *Senna birostris* empleado el método espectrofotométrico, en el Laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho.

La cuantificación de 1,8 dihidroxiantraquinona se hizo por cromatografía líquida de alta resolución, en el Laboratorio Labicer de la Facultad de Ciencias de La Universidad Nacional de Ingeniería, Lima. *S. alata* mostró contenidos de antraquinonas totales en flores y hojas de 0,0345 y 0,0662%, respectivamente; mientras que *S. birostris*, en flores y hojas, 0,0189 y 0,0333%, respectivamente. El análisis cuantitativo por HPLC de 1,8 dihidroxiantraquinona, mostró que *S. alata*, en flores y hojas contiene 11,236 y 57,559 µg/g, respectivamente; y *S. birostris*, 20,574 y 2,222 µg/g, respectivamente. Se concluye que *S. alata*, exhibe mayor contenido de antraquinonas totales y 1,8 dihidroxiantraquinona en sus hojas, por lo que representa una fuente importante de este metabolito para su aprovechamiento en la industria farmacéutica.

Palabras clave: Antraquinonas, *Senna alata*, *Senna birostris*, “mutuy”, 1,8 dihidroxiantraquinona,

I. INTRODUCCIÓN

Este trabajo nace de nuestra experiencia académica universitaria, de nuestro acercamiento con la medicina tradicional y el cariño por la flora andina de nuestro país, en vista de las alternativas que estas representan en el campo de la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria.

Desde siempre las plantas han constituido una fuente importante para el aislamiento de productos naturales como tintes, saborizantes y fragancias. Varios de estos compuestos químicos son metabolitos secundarios que no son necesarios para el crecimiento de las plantas y se acumulan en tejidos especializados, tal es el caso de las antraquinonas, que es el tema sobre el cual gira este trabajo, dado que este grupo químico se utiliza en la producción de medicamentos para el tratamiento de gingivitis, estomatitis, úlceras bucales, inflamación de la mucosa y condiciones periodontal. Miembros del grupo de las antraquinonas “senna” se utiliza en la preparación de laxantes para el estreñimiento o para la desocupación del intestino antes de un procedimiento de radiología abdominal.¹

Senna alata y *Senna birostris*, se emplean bajo varias formas en el tratamiento de varias enfermedades. En nuestro medio no existen reportes del contenido de antraquinonas en las especies mencionadas y pese a su endemismo en nuestra región, han permanecido ignoradas, olvidando que dentro del conocimiento farmacéutico las antraquinonas son metabolitos secundarios que destacan en importancia en estas especies,² cuyo potencial terapéutico e industrial es enorme.

El hecho de que existan vacíos en el conocimiento de la terapéutica de muchas enfermedades genera la necesidad de estudiar los recursos vegetales desde un punto de vista científico, puesto que las plantas no constituyen simplemente un reservorio de principios activos con actividad farmacológica, sino también un gran potencial para transformar los productos, por semisíntesis, en análogos

más efectivos o para validar su empleo en la medicina tradicional. Por ejemplo, un primer paso en este cometido sería estudiar cuantitativamente la distribución de metabolitos secundarios en los diferentes tejidos especializados de una planta, lo que contribuye a elegir mejor la droga a usar y mejorar su aprovechamiento, a un nivel aplicado, en la industria alimentaria o farmacéutica.

Bajo este escenario, este trabajo tuvo como objetivos, los siguientes:

1. Determinar el contenido de antraquinonas y 1,8 dihidroxiantraquinona en las hojas y flores de *Senna alata* y *Senna birostris* por espectrofotometría.
2. Comparar el contenido de antraquinonas en hojas y flores de *Senna alata* y *Senna birostris*.

El desarrollo de este trabajo tuvo lugar en el Laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en el Laboratorio Labicer de la Facultad de Ciencias de La Universidad Nacional de Ingeniería, Lima.

Aun cuando se tuvo ciertas limitaciones, nuestros resultados tienen validez dada la rigurosidad de los procedimientos y técnicas instrumentales empleados, por lo que este trabajo representa un aporte al estudio químico de *Senna alata* y *Senna birostris*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Panichayupakaranant y col.³, en un estudio sobre la extracción y determinación cuantitativa de antraquinonas de las hojas de *Senna alata*, describió los parámetros de linealidad, precisión, exactitud y especificidad del método en la determinación simultánea de cuatro antraquinonas: reína, aloe emodina, emodina y crisofanol, con un alto grado de especificidad, así como la repetibilidad y la reproducibilidad (valores relativos desviación estándar de menos de 5%).

Barrese y col.⁴, desarrollaron una técnica analítica cuantitativa que permite determinar la concentración de quinonas presentes en la droga cruda y en el extracto fluido de *Senna alata* (L.) Roxb., conocida popularmente como guacamaya francesa. Se modificaron algunos aspectos del procedimiento analítico como fueron el tiempo de reflujo, tiempo de desarrollo de color y la forma en que se trabajó con las fases etéreas. Se estudió tres métodos de cuantificación, todos mostraron buena linealidad, exactitud y precisión, pero se seleccionó aquel que redujo en mayor porcentaje las interferencias debidas a los productos de degradación y fue el método de espectrofotometría diferencial, que, además, mostró mayor especificidad y un menor porcentaje de error. Se empleó una solución de referencia de cloruro de cobalto (CoCl₂). Las modificaciones introducidas en el procedimiento analítico permitieron disponer de una técnica rápida y sencilla, ideal para ser realizada en un centro de producción farmacéutica. Nuevamente, Barrese y col.⁵, realiza el estudio fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de *Cassia alata* L. con el propósito de contribuir al conocimiento, con base científica, de los componentes presentes en ellos, útiles en la elaboración de productos farmacéuticos. Se realizó, además, la caracterización del extracto fluido y la droga cruda para establecer sus indicadores de calidad. Para la obtención de las muestras se realizó extracciones

sucesivas con solventes de distintas polaridades; en el caso del extracto fluido se utilizó etanol al 30 % como menstruo; la droga cruda se obtuvo mediante la trituración en molino de cuchilla y martillo de las hojas secas de la planta. Para realizar el tamizaje fitoquímico se emplearon técnicas simples, rápidas, que requirieron un mínimo de equipamiento y selectivas para determinados compuestos. Se comprobó la presencia de taninos en el extracto acuoso y de quinonas en el extracto alcohólico. Los indicadores de calidad para la droga cruda y el extracto fluido se ubicaron dentro de los rangos establecidos para drogas vegetales y pueden servir de referencia para aquellas plantas que sean recolectadas en condiciones similares a las de este estudio. Se comprobó la alta diversidad de compuestos químicos presentes en la guacamaya francesa, lo que fundamenta su empleo en la cura de diversas afecciones.

De otro lado, Botero y col.⁶, de la Facultad de Tecnología de la Universidad de Pereira, ha desarrollado una técnica de extracción de compuestos antraquinónicos del mucílago de *Aloe vera*, así como la estandarización de una técnica espectrofotométrica UV-VIS que permitan la cuantificación de estos analitos en los productos que contengan *Aloe vera* calculando los parámetros estadísticos necesarios para esto, como son la precisión, linealidad, límite de detección y límite de cuantificación, sensibilidad y límite de linealidad; logrando valores aceptables de estas medidas, indicando que la técnica muestra concordancia entre los análisis. Así mismo, Sánchez y col.⁷, también de la Universidad de Pereira, desarrolló otra técnica analítica espectrofotométrica para la extracción y cuantificación de antraquinonas presentes en la corteza, látex y gel de las hojas de *Aloe vera*.

2.2. *Senna alata* L.

2.2.1. Clasificación sistemática. Según el sistema de clasificación de Cronquist A. 1988, es la siguiente:

- División : MAGNOLIOPHYTA
- Clase : MAGNOLIOPSIDA
- Subclase : ROSIDAE
- Orden : FBALES
- Familia : CAESALPINIACEAE
- Género : *Senna*
- Especie : *Senna alata* L.
- N.V. : "mutuy"

2.2.2. Descripción botánica

El género *Cassia* es uno de los más grandes de la Familia, propio de las regiones tropicales y subtropicales, con cerca de 600 especies; del Perú 63. Algunos autores sinonimizan a este taxón con *Senna*.⁸

Senna alata es una mala hierba común en las áreas de pastos cultivados de la región amazónica.⁹

Senna alata es un arbusto de dos a tres metros de altura, muy ramoso, originario de América tropical. Hojas de hasta un metro, foliolos de seis a doce pares, oblongos y obovados de 4 a 15 cm, emarginados. Racimos grandes; sépalos obovados de 1 cm, pétalos obovados de hasta 2 cm. Legumbre linear, alada de 8 a 15 cm de ancho. Semillas de 5 mm, color café oscuro a negras.^{10,5}

2.3. *Senna birostris* (Dombey ex Vogel). Según el sistema de clasificación de Cronquist A. 1988, es la siguiente:

2.3.1. Clasificación sistemática

- División : MAGNOLIOPHYTA
- Clase : MAGNOLIOPSIDA
- Subclase : ROSIDAE
- Orden : FABALES
- Familia : CAESALPINIACEAE
- Género : *Senna*
- Especie : *Senna birostris* (Dombey ex Vogel)
- N. V. : “mutuy”

2.3.2. Descripción botánica

Senna birostris es un arbusto de unos dos a cinco metros de altura. Tiene la copa globosa con el follaje denso y oscuro. La corteza externa es agrietada, de color marrón claro; la interna, blanquecina. Hojas compuestas, paripinnadas, alternas y dispuestas en espiral de unos diez a veinte centímetros de longitud, con doce a quince pares de hojuelas elípticas, sus láminas son glabras (no tienen pelos). Flores dispuestas en racimos simples, terminales o axilares, de doce a dieciocho centímetros de longitud, cada flor de unos cuatro centímetros de longitud, vistosas, de color amarillo, hermafroditas, poseen cáliz con cinco sépalos libres y corola con cinco pétalos libres color amarillo intenso; tienen siete estambres y un pistilo pubescente y alargado, con el ovario de dos a cuatro milímetros de longitud. Fruto legumbre de unos siete a once centímetros de longitud y hasta dos centímetros de ancho, de color marrón cuando maduros. Portan unas cuatro a diez semillas.¹¹

2.4. Usos medicinales de *Senna alata* y *Senna birostris*

Granos de la piel: hoja, maceración acuosa, baños. Micosis interdigital: hoja, machacada, en cataplasma. Dermatitis: hoja, zumo, aplicación, maceración, baños.¹⁰

En Cuba, Camerún, Brasil, India y otros países, sus hojas, corteza, flores y raíces se usan en la medicina popular por sus propiedades antiherpética, febrífugo, antianémico, antiblenorrágica, antinefrítica, antídotos, antimicótico, diurético, antiparasitario, laxante, y enfermedades de la piel. *Senna alata* debe administrarse con cuidado, ya que se sospecha que es tóxico para los riñones y también se considera abortivo.¹²

Senna birostris, en la sierra central peruana es empleada en el tratamiento de la disentería, diarreas y cólicos.¹³ Las hojas tiernas se frotan sobre las partes afectadas para curar el herpes.¹¹

Se ha reportado también que las hojas y flores en infusión pueden actuar como laxante, como así también sus semillas las cuales pueden ser eméticas perdiendo estas propiedades una vez tostadas.¹⁴

2.5. Antraquinonas

2.5.1. Origen biosintético

Son metabolitos secundarios que se forman a través de la ruta de los policétidos por condensación de eslabones C₂ hasta dar una molécula que finalmente se cicla.¹⁵

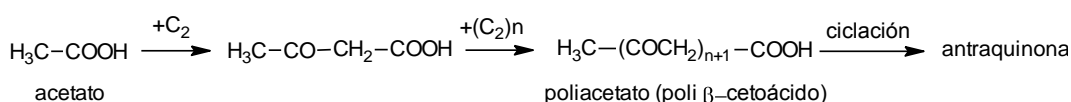


Figura 1. Biosíntesis de antraquinonas.¹²

También se considera que ciertos derivados antracénicos proceden de la ruta del ácido shikímico.¹⁵

2.5.2. Estructura química

Tienen el sistema tricíclico del antraceno, pero con el anillo central más o menos oxidado, lo cual permite diferenciar los distintos tipos de derivados antracénicos. Generalmente están en forma de heterósido: hay O-heterósidos, C-heterósidos, e incluso O y C-heterósidos a la vez.¹⁵

2.5.3. Tipos

Según el grado de oxidación del anillo central se diferencian varios tipos de derivados antracénicos: a) Antraquinonas, con dos funciones cetona en el anillo

hidroximetilo (CH₂OH) o metilo (CH₃). En ocasiones también están sustituidos en la posición 6. Estas moléculas se presentan unidas a azúcares formando heterósidos antracénicos (Tabla 1). La unión al azúcar es por el OH de la posición 8. Si contienen un segundo azúcar, éste se une por la posición 6 en los O-heterósidos y por la posición 10 en el caso de los C-heterósidos.¹⁵

2.5.4. Distribución

Abundan principalmente en hongos (cornezuelo del centeno), líquenes y plantas superiores, sobre todo en ciertas familias de Dicotiledóneas como Polygonáceas, Ramnáceas, Leguminosas, Ericáceas, Euforbiáceas, Escrofulariáceas y Rubiáceas. En monocotiledóneas sólo se han hallado derivados antracénicos en las Liliáceas. Con menos frecuencia en bacterias y animales (p. ej.: insectos como la cochinilla).¹⁵

2.5.5. Propiedades

Las formas libres (aglicones, geninas) son sólidos coloreados (amarillos, anaranjados, rojizos), poco solubles en agua fría y más soluble en agua caliente y mezclas hidroalcohólicas en caliente. También son solubles en disolventes orgánicos apolares (éter). En cambio, los heterósidos antracénicos (antracénósidos) son muy solubles en agua y mezclas hidroalcohólicas e insolubles en disolventes orgánicos apolares.¹⁵

2.5.6. Acciones farmacológicas.

La principal acción de los derivados antracénicos es su poder laxante (aumenta el peristaltismo). Ejercen también un efecto colagogo (favorecen la salida de bilis de la vesícula biliar) y, a dosis elevadas y según el estado de los principios activos, tienen un efecto purgante.¹⁵

2.6. Antraquinonas de *Senna alata* L.

Las antraquinonas identificadas en *Senna alata* se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Heterósidos antracénicos.¹⁵

	<table border="1"> <thead> <tr> <th>R₁</th> <th>R₂</th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>Crisofanol</td> </tr> <tr> <td>CH₂OH</td> <td>H</td> <td>Aloemodina</td> </tr> <tr> <td>COOH</td> <td>H</td> <td>Reína</td> </tr> <tr> <td>CH₃</td> <td>OH</td> <td>Emodina (frangulaemodina)</td> </tr> <tr> <td>CH₃</td> <td>OCH₃</td> <td>Fiscina</td> </tr> </tbody> </table>	R ₁	R ₂		CH ₃	H	Crisofanol	CH ₂ OH	H	Aloemodina	COOH	H	Reína	CH ₃	OH	Emodina (frangulaemodina)	CH ₃	OCH ₃	Fiscina
R ₁	R ₂																		
CH ₃	H	Crisofanol																	
CH ₂ OH	H	Aloemodina																	
COOH	H	Reína																	
CH ₃	OH	Emodina (frangulaemodina)																	
CH ₃	OCH ₃	Fiscina																	
Antraquinonas y antracenosídeos																			
<p>8-Glucósido de reína</p>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>R₁</th> <th>R₂</th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Glucosa</td> <td>Ramnosa</td> <td>Glucofrangulósido A</td> </tr> <tr> <td>Glucosa</td> <td>Apiosa</td> <td>Glucofrangulósido B</td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>Ramnosa</td> <td>Frangulósido A</td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>Apiosa</td> <td>Frangulósido B</td> </tr> </tbody> </table>	R ₁	R ₂		Glucosa	Ramnosa	Glucofrangulósido A	Glucosa	Apiosa	Glucofrangulósido B	H	Ramnosa	Frangulósido A	H	Apiosa	Frangulósido B		
R ₁	R ₂																		
Glucosa	Ramnosa	Glucofrangulósido A																	
Glucosa	Apiosa	Glucofrangulósido B																	
H	Ramnosa	Frangulósido A																	
H	Apiosa	Frangulósido B																	
O-Heterósidos																			
<p>Aloína o barbaloina</p>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>R₁</th> <th>R₂</th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>H</td> <td>CH₂-O-Ramnosa</td> <td>Aloinósidos A y B</td> </tr> <tr> <td>Glucosa</td> <td>CH₂O</td> <td>Cascarósidos A y B</td> </tr> <tr> <td>Glucosa</td> <td>CH₃</td> <td>Cascarósidos C y D</td> </tr> </tbody> </table>	R ₁	R ₂		H	CH ₂ -O-Ramnosa	Aloinósidos A y B	Glucosa	CH ₂ O	Cascarósidos A y B	Glucosa	CH ₃	Cascarósidos C y D					
R ₁	R ₂																		
H	CH ₂ -O-Ramnosa	Aloinósidos A y B																	
Glucosa	CH ₂ O	Cascarósidos A y B																	
Glucosa	CH ₃	Cascarósidos C y D																	
<p>Crisaloína o desoxialoina</p>																			
C- Heterósidos																			
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>R</th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>COOH</td> <td>Senósido A y B</td> </tr> <tr> <td>CH₂OH</td> <td>Senósido C y D</td> </tr> </tbody> </table>	R		COOH	Senósido A y B	CH ₂ OH	Senósido C y D												
R																			
COOH	Senósido A y B																		
CH ₂ OH	Senósido C y D																		
O-Heterósidos y C-Heterósidos																			

Tabla 2. Antraquinonas de *Senna alata*.²

Parte de la planta	Antraquinona
Hojas	Aloe-emodina Ácido crisofánico Crisofanol Isocrisofanol Emodol Reína Parietina 4,5-dihidroxi-1-hidroxi-metilantrona 4,5-dihidroxi-2-hidroxi metilantraquinona
Vainas	Aloe-emodina Emodina Reína
Semillas	Crisofanol 2-hidroxi metilantraquinona
Raíces	1,3,8-Trihidroxi-2-metilantraquinona 1,5-dihidroxi-8-metoxi-2-metilantraquinona-3-O-D-(+)- glucopiranosido Reína Aloe-emodina Emodina Crisofanol Parietina
Tallos	1,5,7-trihidroxi-3-metilantraquinona (alatinona) 2-formil-1,3,8-trihidroxi-antraquinona (alatonal)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

Se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia, del Área Académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, y en la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), Laboratorio N°12 (LABICER, Análisis químico, consultoría e investigación) de la Facultad de Ciencias, en la ciudad de Lima.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Hojas y flores de plantas adultas de *Senna alata* “mutuy” que crecen en los jardines de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Ciudad Universitaria), hojas y flores de plantas adultas de *Senna birostris* “mutuy” que crecen en el distrito de Chiara, provincia de Huamanga, región Ayacucho, a 3515 msnm.

3.2.2. Muestra

Estuvo constituida por 500g de hojas y 500g de flores de *Senna alata* “mutuy” y *Senna birostris* “mutuy”.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección de la muestra

Las hojas y flores fueron recolectadas de plantas adultas en plena floración en el mes de abril de 2016, en los jardines de la Ciudad Universitaria (UNSCH), Ayacucho y en el distrito de Chiara, región Ayacucho, en horas de la mañana.

Se seleccionaron las hojas y flores intactas, se lavó con abundante agua, se extendió en bandejas perforadas de acero inoxidable; fueron secadas a la sombra a temperatura ambiente y removidas diariamente durante siete días, en una habitación ventilada.¹³

Una muestra herborizada de cada especie fue remitida al laboratorio de *Herbarium Huamanguensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH

para su clasificación sistemática por la Blga. Laura Aucasime Medina.

3.4. Cuantificación de antraquinonas totales por espectrofotometría UV/VIS

Para este cometido se han seguido los procedimientos establecidos en la Farmacopea de los EEUU (USP38).

3.4.1. Reactivos

Se prepara una solución acuosa de cloruro férrico 105 mg/mL; una solución de acetato de magnesio metanólico 5 mg/mL; una solución acuosa de bicarbonato de sodio 5 mg/mL; y una solución estándar (1,8 dihidroxiantraquinona) 0,13 mg/mL en solución de bicarbonato de sodio.

3.4.2. Solución muestra

Se pesa y reduce a polvo 10 g de muestra. Se transfiere 0,15 g a un matraz de fondo redondo de 100 mL. Se agrega 30 mL de agua, se mezcla, se pesa, se conecta un condensador y se somete a reflujo en un baño de agua durante 15 minutos. Se enfría a temperatura ambiente, se pesa y ajusta al peso original con agua. Se centrifuga y transfiere 20,0 mL del sobrenadante a un embudo de separación de 150 mL. Se agrega 0,1 mL de ácido clorhídrico diluido y se agita con tres cantidades de cloroformo de 15 mL cada una. Se deja a que se separen y se desecha la capa clorofórmica después de cada adición. Se agrega aproximadamente 0,1 g de bicarbonato de sodio, se agita durante tres minutos y se centrifuga. Se usa el sobrenadante como la solución muestra.

3.4.3. Cuantificación

Se transfiere 10,0 mL de la solución estándar y de la solución muestra a sendos matraces de fondo redondo de 100 mL equipados con condensadores. Se agrega 20 mL de la solución de cloruro férrico y se mezcla. Se somete a reflujo en un baño de agua durante 20 minutos. Se agregan 1 mL de ácido clorhídrico y se somete a reflujo durante 20 minutos adicionales, agitando frecuentemente para disolver los precipitados. Se enfría a temperatura ambiente, se transfiere las mezclas a sendos embudos de separación de 100 mL y se agita con tres cantidades, de 25 mL cada una, de éter usado previamente para enjuagar los matraces. Se combina los extractos etéreos, se mezcla y se lava con dos cantidades de 15 mL de agua cada una. Se transfiere las capas etéreas a sendos matraces volumétricos de 100 mL. Se diluye con éter a volumen y se mezcla. Se evapora 10 mL de los extractos etéreos hasta sequedad y se disuelve el residuo en 10 mL de solución de acetato de magnesio metanólico. Se determina la absorbancia de la solución resultante a partir de la solución

estándar y la solución muestra con un espectrofotómetro Genesys 6, equipado con celdas de cuarzo idénticas, usando metanol como blanco, a 515 nm.

Se calcula el porcentaje de antraquinonas en la porción de hojas de *Senna* tomada:

$$\text{Antraquinonas} = \left(\frac{A_u}{A_s}\right) \cdot C_s \cdot \left(\frac{V}{W}\right) \cdot 100$$

Dónde:

A_u : absorbancia de la *Solución muestra*

A_s : absorbancia de la *Solución estándar*

C_s : concentración de antraquinonas en la solución estándar (mg/mL)

V : volumen de agua al cual se agregó muestra reducida a polvo, 30 mL

W : peso de muestra reducida a polvo (mg)

3.5. Cuantificación de 1,8 dihidroxiantraquinona por HPLC

Se desarrolló teniendo en cuenta los procedimientos descritos por Panichayupakaranant *et al.*³, con algunas modificaciones. Se empleó un cromatógrafo líquido de alto rendimiento-HPLC marca Shimadzu.

3.5.1. Preparación de la muestra

Las muestras pulverizadas de hojas y flores de ambas especies (100 mg) se extrajeron con metanol (20 mL) bajo condiciones de reflujo durante una hora. El extracto se filtró y se concentró después a presión reducida.

A los extractos metanólicos secos se les agregó 1,5 mL de ácido acético al 2% y se sonicaron en el ultrasonido por 25 minutos a temperatura ambiente. Luego, se agregaron 3,5 mL de metanol HPLC y se sonicaron por 15 minutos adicionales. El volumen total fue de 5 mL para cada muestra. Las muestras se filtraron usando filtros de jeringa de 0,45 μm y se trasvasaron a los viales. Estos se colocaron inmediatamente en la bandeja de viales del HPLC, acondicionada a 15°C, para su análisis inmediato, con el fin de evitar la posible degradación química. Los análisis se realizaron por triplicado.³

3.5.2. Preparación de la solución estándar

Se preparó una solución stock de 1,8-dihidroxiantraquinona (Sigma Aldrich ®) de 250 ppm con metanol HPLC. Las soluciones estándar de trabajo se prepararon diluyendo la solución stock con fase móvil (metanol: ácido acético al 2% acuoso, 70:30 v/v) para proveer una curva de calibración de las siguientes concentraciones: 1; 5; 12,5; 25; 50; 75 y 100 ppm.

3.5.2. Condiciones cromatográficas

Las condiciones cromatográficas bajo las cuales se hizo el análisis fueron las que se describen en la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones cromatográficas para la cuantificación de antraquinonas de las flores y hojas de *Senna alata* y *Senna birostris* por HPLC. Lima 2016.

Elemento	Descripción
Columna	RP C18 de 250 mm x 4.6 mm ID x 5µm partícula (Restek)
Horno de columna	25°C
Detector	Arreglo de diodos, DAD
Longitud de onda	254nm
Bomba	Cuaternaria
Flujo	1 mL/min
Fase móvil	Metanol: ácido acético al 2% en agua ultrapura, 70:30 v/v
Elución	Isocrática
Volumen de Inyección	20 µL
Tiempo de corrida	35 minutos
Integración	Área vs Concentración

Temperatura 20°C Humedad relativa 60%

4. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos fueron registrados en una hoja de cálculo de Excel (Office 2013). El análisis descriptivo de las medias y desviación estándar de las cantidades de antraquinona halladas se calcularon con el programa SPSS v22, los que se representaron en forma de gráficas de barras de error y tablas.

IV. RESULTADOS

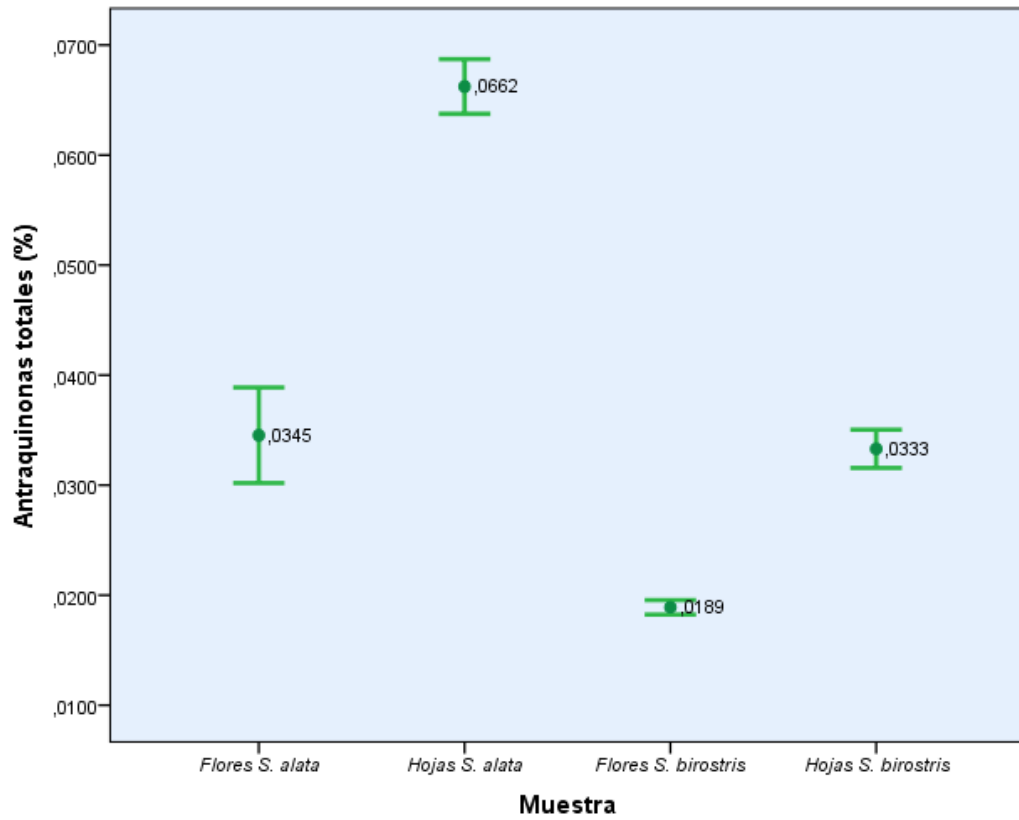


Figura 3. Porcentaje de contenido de antraquinonas totales presentes en las flores y hojas de *Senna alata* y *Senna birostris* determinado por método espectrofotométrico. Ayacucho 2016.

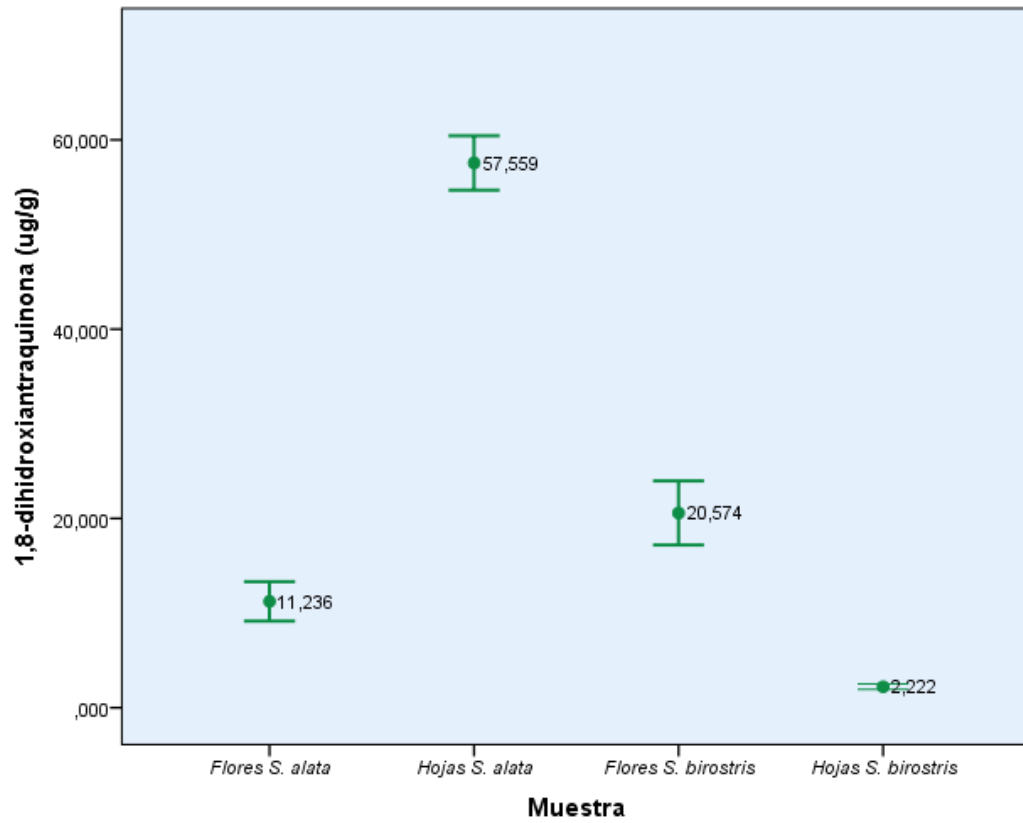


Figura 4. Contenido de 1,8-dihidroxi-antraquinona en las flores y hojas de *Senna alata* y *Senna birostris* determinado por HPLC. Lima 2016.

V. DISCUSIÓN

Las hojas y flores de *Senna alata* y *Senna birostris* fueron recolectadas en horas de la mañana (8:00 am), en el mes de abril, época en la que dichas especies se encuentran en plena floración. La recolección se realizó sin dificultad en vista de que dichas plantas crecen de forma silvestre en nuestra región, lo que facilitó el acceso a ellas. Las muestras de *Senna birostris* fueron recolectadas en el distrito de Chiara, a 3527 m de altitud; mientras que las de *Senna alata*, a 2761 m.

Para el estudio cuantitativo de antraquinonas en drogas crudas o en extractos existen varias técnicas analíticas ideadas a través del tiempo dada las importantes aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica de dichos metabolitos secundarios. Por ejemplo, clásicamente se ha empleado la técnica analítica basada en la reacción de Borntrager que es el fundamento teórico de los procedimientos descritos en la literatura para cuantificar antraquinonas totales, entre ellos, el método colorimétrico de *Anterhoff y Ball*.⁴ Actualmente se encuentran disponibles métodos instrumentales modernos para la determinación cuantitativa de antraquinonas que incluyen la espectrofotometría y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC); sin embargo, el método espectrofotométrico demanda mucho tiempo porque requiere de varios pasos de preparación de las muestras. Frente a esto, la técnica de cuantificación por HPLC ofrece mayores ventajas.^{3,16} Aun cuando la técnica de cuantificación espectrofotométrica muchas veces resulta tediosa, hasta hoy su validez resulta indiscutible.

Es mundialmente reconocida la importancia farmacognóstica de las hojas y frutos de la especie exótica *Senna alexandrina* P. Miller (*Cassia acutifolia* Del. y *C. angustifolia* Vahl), considerada como la especie vegetal que proporciona uno de los más seguros y eficaces laxantes conocidos por el hombre. Las propiedades catárticas del "sen" están dadas por la riqueza en derivados antracénicos que contiene. Su empleo en medicina data del siglo X, pero recién

en el siglo XX se descubrieron los primeros glucósidos activos y en 1950, Stoll *et al* aislaron por primera vez los glucósidos en forma cristalina.¹⁷

En la Figura 3, se muestra la cantidad porcentual de antraquinonas determinadas por espectrofotometría. *S. alata* muestra contenidos de antraquinonas en flores y hojas de 0,0345 y 0,0662%, respectivamente; mientras que *S. birostris*, en flores y hojas, 0,0189 y 0,0333%, respectivamente. Evidentemente, las hojas de *S. alata* tienen el más alto contenido de antraquinonas totales seguido de sus flores que prácticamente son similares al contenido con las hojas de *S. birostris*, cuyas hojas muestran el más bajo contenido de antraquinonas. La tendencia de contenidos altos de metabolitos secundarios en hojas más que en flores es lógica en cierta medida, se sabe que generalmente los metabolitos secundarios se concentran mayoritariamente en las hojas dado que estos son los órganos donde se llevan a cabo los procesos metabólicos de la planta.

En la Figura 4, se observa gran similitud con lo observado en la Figura 3. Respecto a *S. alata*, el análisis por HPLC del contenido de 1,8 dihidroxiantraquinona, mostró que las flores contienen cantidades inferiores (11,236 µg/g) de esta antraquinona en comparación con las hojas (57,559 µg/g). En contraste, dado que las cantidades de metabolitos secundarios por lo general se presentan en mayor cantidad en las hojas, los resultados cuantitativos mostrados por *S. birostris* resultan ser particularmente incongruentes en vista de que el contenido de dicha antraquinona en flores (20,574 µg/g) es mayoritariamente superior a la cuantificada en hojas (2,222 µg/g). Sin embargo, esta condición no debe ser entendida como un error técnico o metodológico.

Las plantas han desarrollado diversas estrategias de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico. Entre tantas estrategias de defensa desarrolladas por las plantas, como parte de la protección química, otra estrategia es la producción de metabolitos secundarios (MS) con actividad antimicrobiana, en contra de herbívoros, o con actividad antioxidante. Los MS son compuestos de bajo peso molecular que no solamente tienen una gran importancia ecológica porque participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, como es el establecimiento de la simbiosis con otros organismos y en la atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos, sino que también, una síntesis activa de MS se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como: a) el consumo por herbívoros

(artrópodos y vertebrados), b) el ataque por microorganismos: virus, bacterias y hongos, c) la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas y d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico.²⁰ En este sentido, se ha descrito que las antraquinonas son metabolitos secundarios de gran importancia debido a que actúan en la planta como mecanismo de defensa; es decir, son una respuesta al medio, el cual incide en su contenido en flores, tallos, hojas, frutos, raíces, etc. Un claro ejemplo de esto es la aloína, una antraquinona y principal componente de una sustancia amarilla que *Aloe vera* secreta como defensa para alejar a posibles depredadores por su olor y sabor desagradables.²¹

En efecto, se ha podido observar durante la recolección, que *S. birostris* era afectada intensamente por insectos plaga a nivel de sus flores principalmente, hecho que probablemente haya desencadenado la síntesis y movilización de antraquinonas hacia este órgano para contrarrestar dicha agresión como medida de defensa. Del mismo modo, las hojas de *S. alata* están expuestas a plagas como langostas o probablemente porque el suelo tiene poca disponibilidad de nutrientes lo que hace que la planta se estrese y genere una alta producción de estos metabolitos como mecanismo de defensa ante plagas y enfermedades.²¹

Otra posibilidad acerca de la distribución de antraquinonas en la planta, es el estadio de crecimiento o etapa de desarrollo de la planta al momento de su recolección. Por ejemplo, respecto a *S. alata*, se ha encontrado que cuando las hojas se cosechan en marzo, junio o setiembre, los derivados hidroxiantracénicos se acumulan más en las hojas jóvenes que en las maduras, mientras que en diciembre (la época de floración y fructificación), los derivados hidroxiantracénicos se acumulan más de las flores (2,21% p/p) y en las vainas (1,82% p/p), respectivamente.²

De otro lado, se ha determinado que las familias vegetales más ricas en compuestos antracénicos son las rubiáceas, ramnáceas y las poligonáceas; y en una menor proporción, las liliáceas, leguminosas, bignoniáceas, melastomatáceas, droseráceas, vismiáceas, etc.¹ Cabe aclarar que dentro de las leguminosas se incluye, según el sistema de clasificación de Cronquist, tres familias (Mimosaceae, Caesalpinaceae, Fabaceae) pertenecientes al orden Fabales.^{18,22}

No existen referencias sobre cuantificación de antraquinonas en hojas o flores de *S. birostris*, por lo que este se constituiría en el primero. Con respecto a *S.*

alata, en cambio, existen estudios sobre su contenido en antraquinonas dado que es una especie de gran distribución en el mundo.

A diferencia de nuestros resultados hallados, los reportados por Metzger *et al*²³, quien también empleó la cromatografía líquida de alta resolución, las hojas de *S. angustifolia* y *S. acutifolia* contenían un total de antranoides dentro de un rango de 2,40 a 2,91%, siendo los senósidos A, B y C, los más importantes cuantitativamente.

VI. CONCLUSIONES

1. El contenido de antraquinonas en las flores y hojas de *Senna alata* fue de 0,0345 y 0,0662%, y en *Senna birostris*, de 0,0189 y 0,0333%, respectivamente. En tanto, el contenido de 1,8 dihidroxiantraquinona en las flores y hojas de *Senna alata* fue de 11,236 y 57,559 $\mu\text{g/g}$, y en *Senna birostris*, de 20,574 y 2,222 $\mu\text{g/g}$, respectivamente.
2. Existe diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las concentraciones de antraquinonas equivalentes de microgramos (μg) de 1,8 dihidroxiantraquinona por gramo (g) de muestra analizada, siendo el contenido más alto en las hojas de *Senna alata*.

VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar las antraquinonas de las hojas de *Senna alata* “mutuy”, caracterizarlas espectralmente y evaluar su bioactividad *in vitro* y en modelos animales.
2. Realizar estudios de cuantificación de antraquinonas de *Senna alata* “mutuy” empleando como muestra otros tejidos especializados, por ejemplo, raíces, tallos y frutos, considerando además el estado fenológico de la planta.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blanco JB, Jerez MAB, Paneca MR, De la Torre MH, Laffite OC, Sánchez RT. Meroterpenos (Antraquinonas) en diferentes partes de la Planta de *Morinda Royoc* L. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. [revista en internet]. 2005 [acceso, 25 de marzo de 2016]; 35 Disponible en: <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/CB-2005-4-CB-054.pdf>
2. Dave H, Ledwani L. A review on anthraquinones isolated from *Cassia* species and their applications. Indian Journal of Natural Products and Resources. [revista en internet]. 2012 [acceso, 15 de marzo de 2016]; 3(3): 291-319. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Hemen_Dave/publication/237163942_A_review_on_anthaquinones_isolated_from_Cassia_species_and_their_applications/links/00b7d51b9fc955836a000000.p
3. Panichayupakaranant P, Sakunpak A, Sakunphueak A. Quantitative HPLC determination and extraction of anthraquinones in *Senna alata* leaves. Journal of chromatographic science. [revista en internet]. 2009 [acceso, 15 de marzo de 2016]; 47(3):197-200. Disponible en: <http://chromsci.oxfordjournals.org/content/47/3/197.short>
4. Barrese PY, Hernández JME, García PO. Desarrollo de una técnica analítica para cuantificar las antraquinonas presentes en la *Senna alata* (L.) Roxb. (Guacamaya francesa). Rev Cubana Plant Med. [revista en internet]. 2005 [acceso, 23 de marzo de 2016]; 10(3-4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-4796200500030010
5. Barrese PY, Hernández JME, García PO. Caracterización y estudio fitoquímico de *Cassia alata* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales. [revista en internet]. 2005 [acceso, 14 de marzo de 2016]; 10(2):0-0. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000200009
6. Botero B, Elmer J, Carrascal LM. Estandarización de la técnica espectrofotométrica (UV-VIS) para la cuantificación de antraquinonas presentes en productos a base de *Aloe vera*. [revista en internet]. 2010 [acceso, 14 de marzo de 2016]; Disponible en: <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/dspace/handle/11059/1800>
7. Sánchez AV, Santa CJF. Estudio de antraquinonas presentes en extractos de mucílago y hojas de *Aloe vera* en plantas cultivadas en la región cafetera. [revista en internet]. 2009 [acceso, 18 de marzo de 2016]; Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/1818>
8. Mostacero J; Mejía F. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Editorial Libertad EIRL. Trujillo; 1993.
9. Rodrigues IMC, Souza FAPS, Ferreira FA, Ilkiu-Borges F, Gurgel ESC. Anatomia e histoquímica das folhas de *Senna alata*. Planta Daninha. [revista en internet]. 2009 [acceso, 15 de marzo de 2016]; 27(3):515-526. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582009000300012>
10. TRAMIL. Programa de Investigación Aplicada a la Medicina Tradicional Popular del Caribe. Farmacopea caribeña. Ediciones Emile Désormeaux-República Dominicana; 1997.
11. Reynel C, Marcelo J. Árboles de los ecosistemas forestales andinos. Manual de identificación de especies. Serie investigación y Sistematización N°9. Programa Regional ECOBONA – INTERCOOPERATION. Lima; 2009.

12. Rodrigues IMC, Souza FAPS, Ferreira FA. Estudio fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. Planta daninha. [revista en internet]. 2009 [acceso, 16 de marzo de 2016]; 27(3):507-513. Disponible en: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/658208/1/11.pdf>
13. Torres, O. Etnomedicina en la sierra central peruana. Huancayo: Instituto Nacional de Cultura Departamental de Junín; 1985. Fabbroni M, Novara L. Fabaceae-Tribu Cassieae. Aportes Botánicos de Salta-Serie Flora. [revista en internet]. 2010 [acceso, 17 de marzo de 2016]; 10(2):1-54. Disponible en:
14. Kuklinski C. Farmacognosia, estudios de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Ediciones Omega; 2003.
15. Villar del Fresno A. Farmacognosia General. Madrid: Editorial Síntesis S.A.; 1999.
16. Metzger W, Reif K. Determination of 1,8-dihydroxyanthranoids in senna. Journal of Chromatography A. 1996; 740(1):133-138. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0021967396001410>
17. Arambarri AM. Morfología, anatomía y formaciones cristalinas en especies del género *Senna*, sección *Chamaefistula* de la Argentina (Leguminosae-Caesalpinioideae-Cassieae-Cassinae) (Doctoral Tesis), Facultad de Ciencias Exactas. (2002).
18. Rodríguez-Riaño T, Ortega-Olivencia A. Devesa J. Biología floral en Fabaceae. Madrid: Editorial CSIC-CSIC Press; 1999.
19. Torrenegra R, Jimenez R. Estudio fitoquímico de hojas y flores de *Senna bicapsulafis* (L) Roxburgh var. *bicapsulafis*. *Actual Biol.* 2002; 24(76):69-74. Disponible en: <http://matematicas.udea.edu.co/~actubiol/actualidadesbiologicas/raba2002v24n76art8.pdf>
20. Sepúlveda-Jiménez G, Porta-Ducoing H, Rocha-Sosa M. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología.* [revista en internet]. 2003 [acceso, 14 de junio de 2016]; 21(3):355-362. Disponible en: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/30165/Material_de_soporte/La_participacion_de_los_metabolitos_secundarios_en_la_defensa_de_las_plantas.pdf
21. Serna V, Ferley M, Villa Pulgarín N. Identificación y cuantificación de antraquinonas y cromonas en plantas de aloe vera cultivadas en municipios de Risaralda por cromatografía líquida de alta eficiencia. [Tesis de Grado]. Universidad Tecnológica de Pereira: Facultad de Tecnología Química Industrial; 2012.
22. González AG, Barroso JT, Cardona RJ, Medina JM, Rodríguez LF. Distribución de antraquinonas y compuestos naftalénicos relacionados en Rubiáceas, Bignoniaceas y Verbenaceas. 1971.
23. Metzger W, Reif K. Determination of 1, 8-dihydroxyanthranoids in senna. Journal of Chromatography A. 1996; 740(1):133-138. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0021967396001410>

ANEXOS

Anexo 1

Certificado de identificación botánica de *Senna alata*.



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

C E R T I F I C A

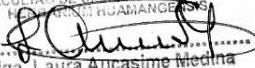
Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Roger, CAMPOS ARCCE** ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	FABALES
FAMILIA	:	CAESALPINIACEAE
GENERO	:	Senna
ESPECIE	:	<i>Senna alata</i> L.Roxb.
N.V.	:	"mutuy"

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

Ayacucho, 7 de Abril del 2016

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

Biga. Laura Aucasime Medina
JEFE

Anexo 2

Certificado de identificación botánica de *Senna birostris*.



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

C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Roger, CAMPOS ARCCE ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	FABALES
FAMILIA	:	CAESALPINIACEAE
GENERO	:	Senna
ESPECIE	:	<i>Senna birostris</i> (Dombey ex Vogel) .Irwin & Barneby.
N.V.	:	"mutuy"

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

Ayacucho, 7 de Abril del 2016

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

Biga. Laura Aucasime Medina
JEFE

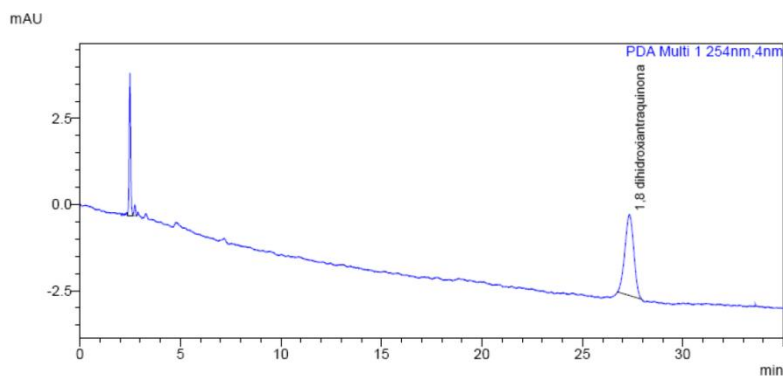
Anexo 3

Antraquinonas totales y contenido de 1,8-dihidroxi-antraquinona en las flores y hojas de *S. alata* y *S. birostris*, determinados por espectrofotometría (Ayacucho 2016) y HPLC (Lima 2016), respectivamente.

	<i>S. alata</i>		<i>S. birostris</i>	
	flores	hojas	flores	hojas
Antraquinonas totales (%)	0.034	0.066	0.019	0.033
	0.034	0.067	0.019	0.032
	0.034	0.066	0.019	0.033
	0,034±0,000	0,066±0,000	0,033±0,000	0,471±0,024
Contenido de 1,8-dihidroxi-antraquinona (µg/g)	11,264	56,226	19,329	2,186
	12,063	58,209	20,363	2,129
	10,381	58,242	22,029	2,351
	11,236±0,842	57,559±1,155	20,574±1,362	2,222±0,115

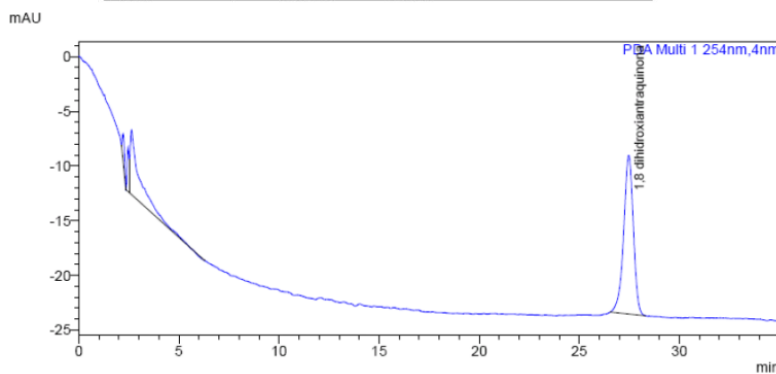
Anexo 4

Cromatogramas y picos del estándar 1,8-dihidroxi-antraquinona obtenidos por HPLC. Lima 2016.



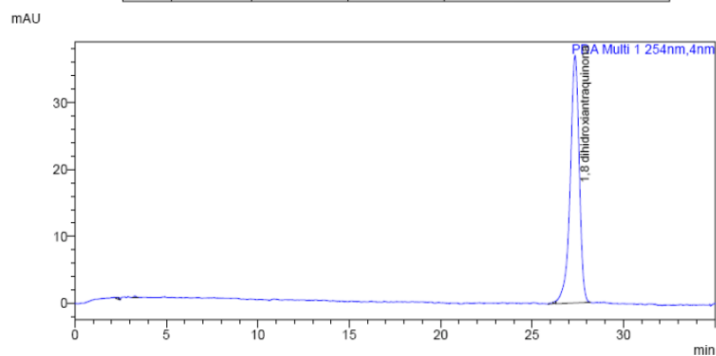
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Name
1	2.489	20881	4135	
2	2.731	1609	305	
3	27.341	72070	2354	1,8 dihidroxiantraquinona
Total		94560	6795	



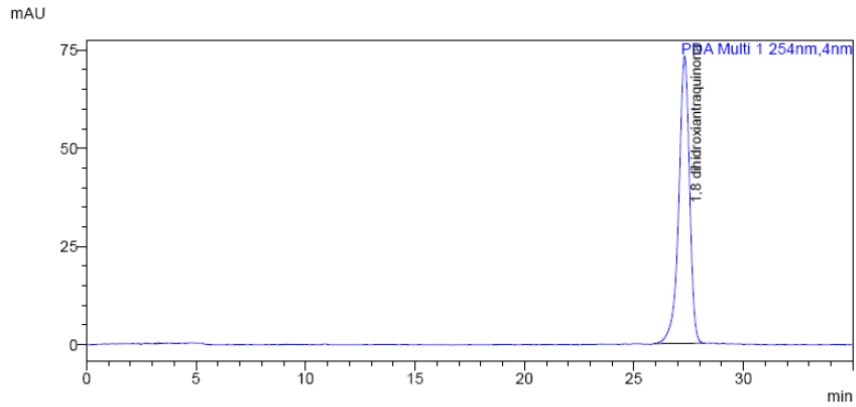
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Name
1	2.212	19190	2583	
2	2.460	26689	4039	
3	2.631	193395	5933	
4	27.465	486671	14487	1,8 dihidroxiantraquinona
Total		725944	27042	



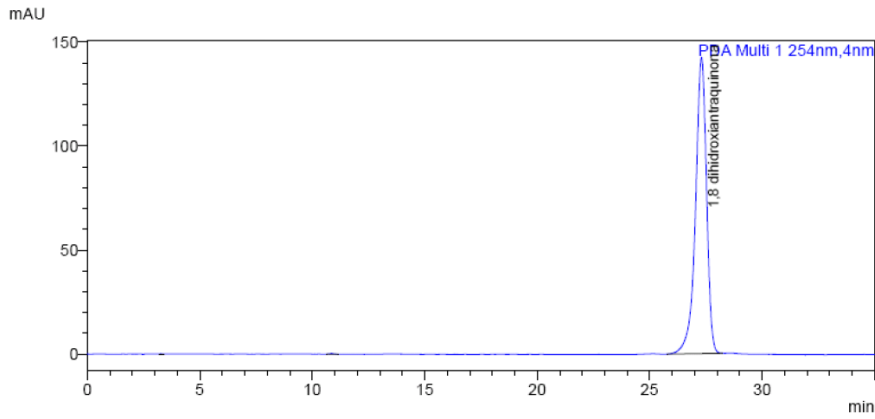
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Name
1	2.348	2068	291	
2	2.421	1105	321	
3	3.277	1696	225	
4	26.005	1704	130	
5	26.176	2651	270	
6	27.344	1268766	36959	1,8 dihidroxiantraquinona
Total		1277990	38196	



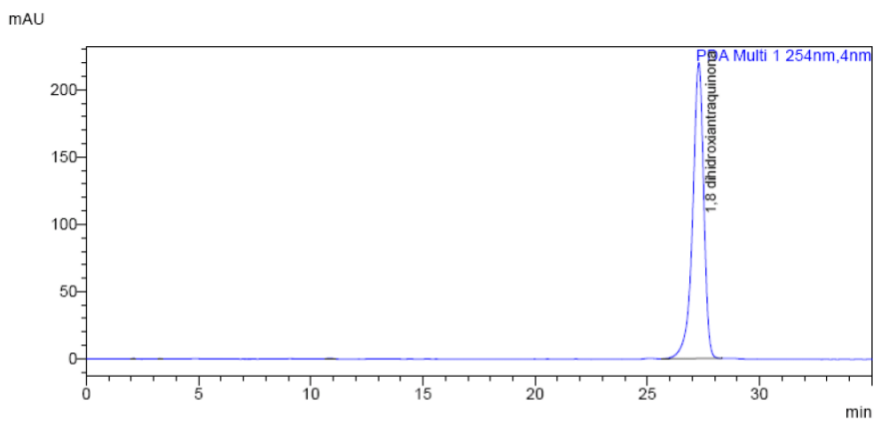
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Name
1	3.273	1995	230	
2	27.313	2500864	73192	1,8 dihidroxiantraquinona
Total		2502859	73422	



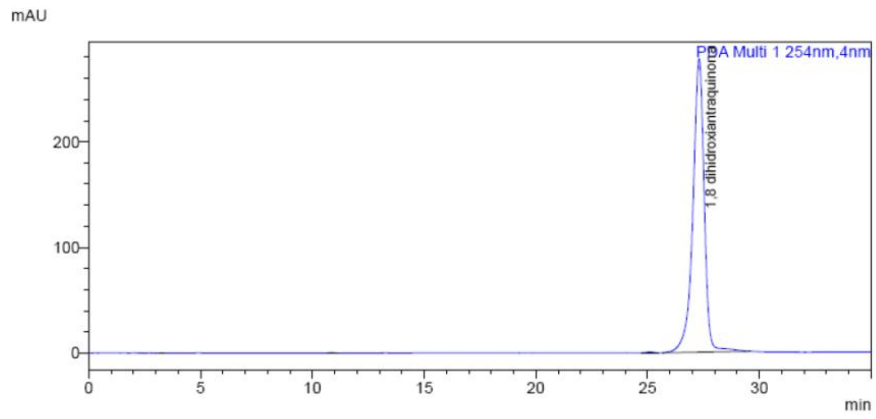
<Peak Table>

PDA Ch1 254nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Name
1	3.266	1202	184	
2	10.868	4980	376	
3	27.305	4874959	142331	1,8 dihidroxiantraquinona
Total		4881140	142891	



<Peak Table>

PDA Ch1 254nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Name
1	2.092	1888	349	
2	3.274	1175	184	
3	10.865	7285	516	
4	27.287	7543499	219693	1,8 dihidroxiantraquinona
Total		7553846	220742	



<Peak Table>

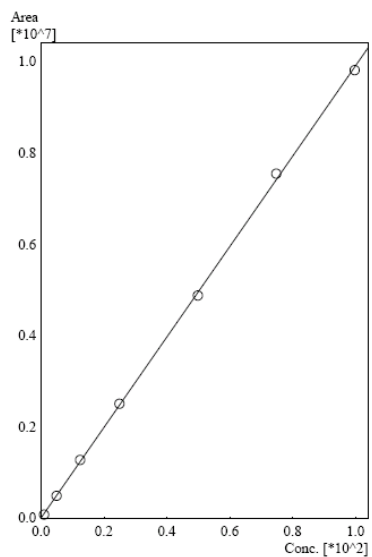
PDA Ch1 254nm				
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Name
1	3.260	1177	175	
2	10.850	8485	621	
3	25.095	12956	547	
4	27.298	9811497	277670	1,8 dihidroxiantraquinona
Total		9834115	279014	

Anexo 5

Curva de calibración de 1,8-dihidroxiantraquinona. Lima 2016.

Calibration Curve

ID# : 1
Name : 1,8 dihidroxiantraquinona
Quantitative Method : External Standard
Function : $f(x)=99101.8*x+4958.32$
Rr1=0.9998251 Rr2=0.9996502 RSS=2.948147e+010
MeanRF: 9.558904e+004 RFSID: 1.049264e+004 RFRSD: 10.976827
FitType : Linear
ZeroThrough : Not Through
Weighted Regression : None
Detector Name : PDA



#	Conc (Ratio)	MeanArea
1	1	72070
2	4.98	486671
3	12.46	1268766
4	24.92	2500864
5	49.84	4874959
6	74.76	7543499
7	99.68	9811497

Anexo 6

Cromatogramas de las muestras de flores de *Senna alata* obtenidos por HPLC.
Lima 2016.

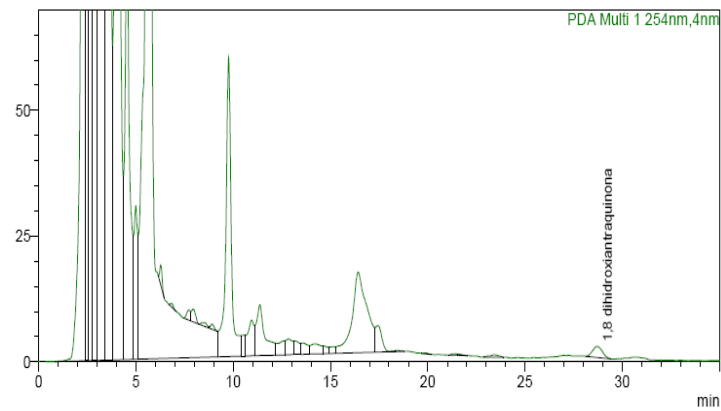
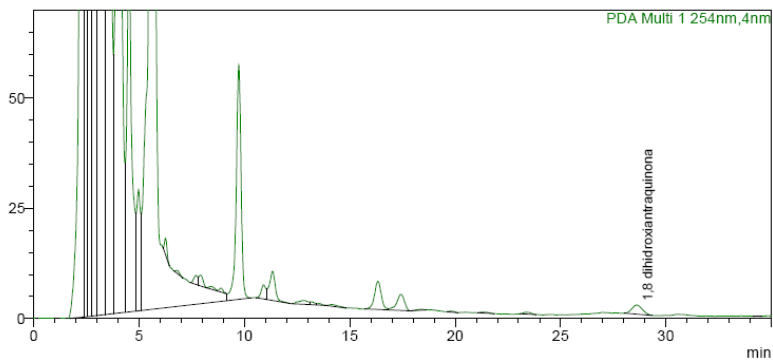
SHIMADZU LabSolutions Analysis Report

<Sample Information>

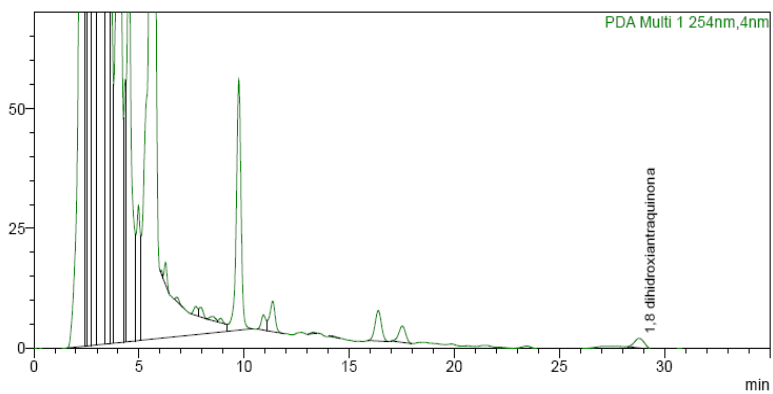
Sample Name	: M 1.3	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: M 1.3	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: M 1.3.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: Metodo Antraquinonas.lcm		
Batch Filename	: Post run batch Muestras.lcb		
Vial #	: 1.9		
Injection Volume	: 20 uL		
Date Acquired	: 01/06/2016 03:54:52 p.m.		
Date Processed	: 01/06/2016 05:01:18 p.m.		

<Chromatogram>

mAU



mAU



Anexo 7

Cromatogramas de las muestras de hojas de *Senna alata* obtenidos por HPLC.
Lima 2016.



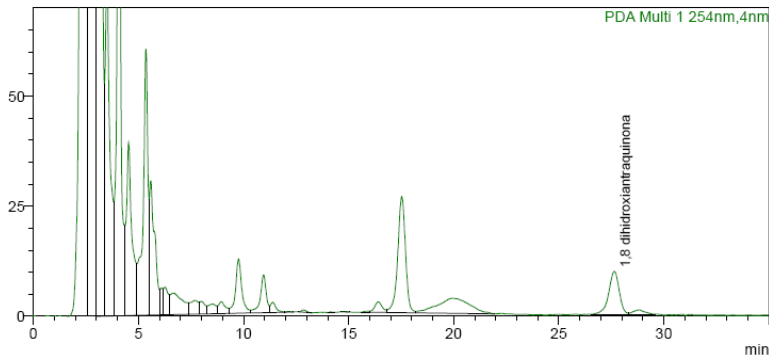
Analysis Report

<Sample Information>

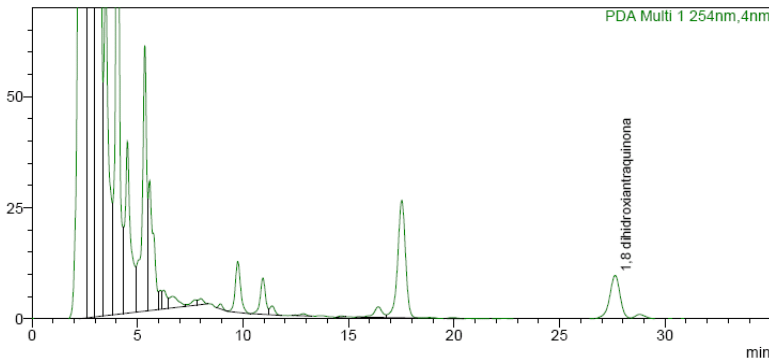
Sample Name	: M2.1	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: M2.1	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: M2.1.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: Metodo Antraquinonas.lcm		
Batch Filename	: Post run batch Muestras.lcb		
Vial #	: 1-10		
Injection Volume	: 20 uL		
Date Acquired	: 31/05/2016 11:48:11 p.m.		
Date Processed	: 01/06/2016 05:01:18 p.m.		

<Chromatogram>

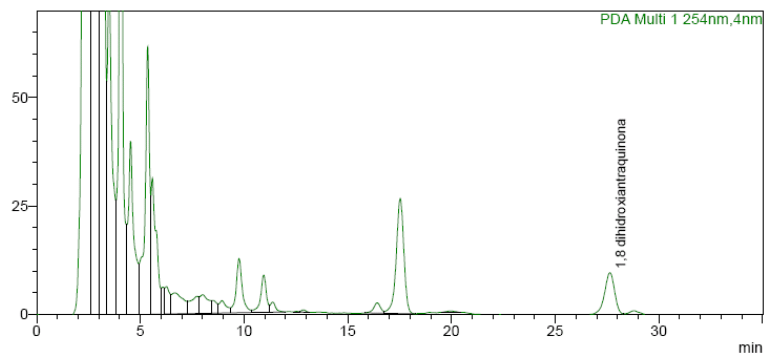
mAU



mAU



mAU



Anexo 8

Cromatogramas de las muestras de flores de *Senna birostris* obtenidos por HPLC. Lima 2016.

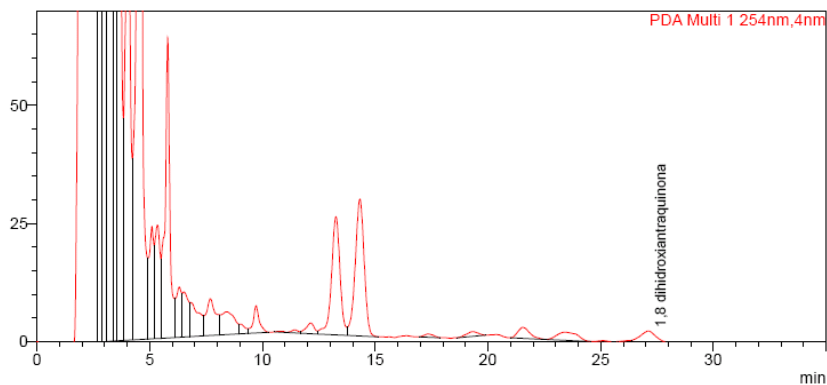
SHIMADZU LabSolutions Analysis Report

<Sample Information>

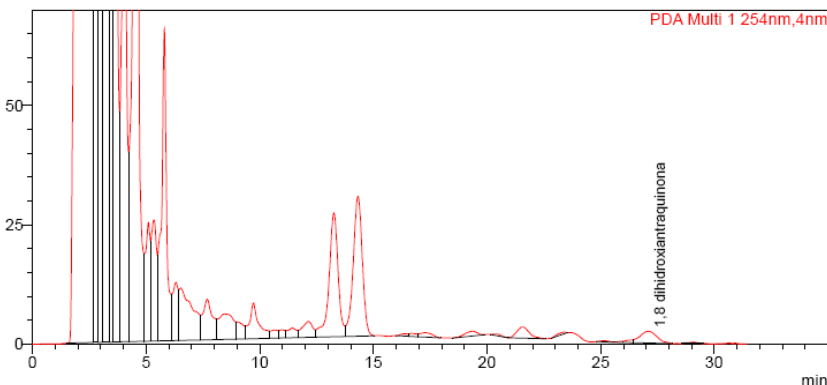
Sample Name	: M3.1	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: M3.1	Acquired by	: System Administrator
Data Filename	: M3.1.lcd	Processed by	: System Administrator
Method Filename	: Metodo Antraquinonas.lcm		
Batch Filename	: Post run batch Muestras.lcb		
Vial #	: 1-13		
Injection Volume	: 20 uL		
Date Acquired	: 01/06/2016 01:34:46 a.m.		
Date Processed	: 01/06/2016 05:01:19 p.m.		

<Chromatogram>

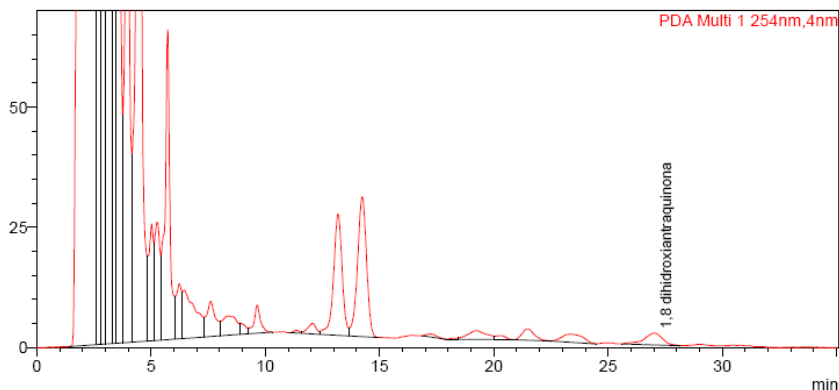
mAU



mAU



mAU



Anexo 9

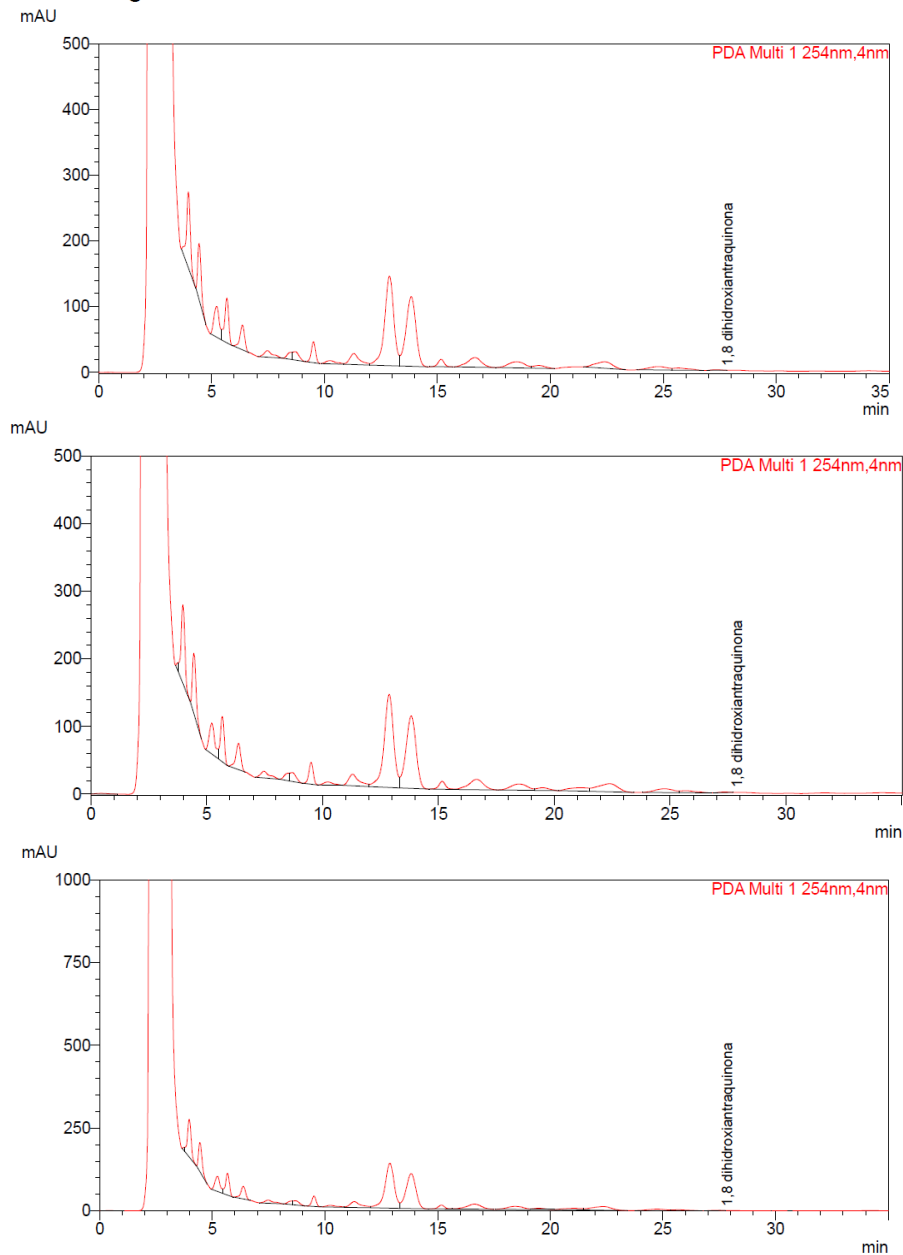
Cromatogramas de las muestras de hojas de *Senna birostris* obtenidos por HPLC. Lima 2016.

SHIMADZU LabSolutions Analysis Report

<Sample Information>

Sample Name : Muestra M4.1 Hojas
Sample ID : Muestra M4.1 Hojas
Data Filename : Muestra M4.1 Hojas.lcd
Method Filename : Metodo Antraquinonas Muestra M4 Hojas.lcm
Batch Filename : Postrun batch Antraquinonas Muestra M4 Hojas.lcb
Vial # : 1-6 Sample Type : Unknown
Injection Volume : 20 uL
Date Acquired : 18/06/2016 01:43:15 a.m. Acquired by : System Administrator
Date Processed : 20/06/2016 10:07:06 a.m. Processed by : System Administrator

<Chromatogram>



Anexo 10

Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivo	Variable	Marco teórico	Metodología
Contenido de antraquinonas en hojas y flores de <i>Senna alata</i> "mutuy" y <i>Senna birostris</i> "mutuy". Ayacucho 2016.	¿Cuál será el contenido de antraquinonas en hojas y flores de <i>Senna alata</i> "mutuy" y <i>Senna birostris</i> "mutuy"?	<p>General</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar el contenido de antraquinonas y 1,8 dihidroxiantraquinona en las hojas y flores de <i>Senna alata</i> y <i>Senna birostris</i>. <p>Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Comparar el contenido de antraquinonas en hojas y flores de <i>Senna alata</i> y <i>Senna birostris</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> Contenido de antraquinonas en hojas y flores de <i>Senna alata</i> y <i>Senna birostris</i> 	<p><i>Senna alata</i> L. Clasificación sistemática Descripción botánica</p> <p><i>Senna birostris</i> Clasificación sistemática Descripción botánica Usos medicinales</p> <p>Antecedentes</p> <p>Antraquinonas</p> <p><i>Antraquinonas de Senna alata.</i></p>	<p>Tipo de investigación: Básica descriptiva</p> <p>Población: Hojas y flores de <i>Senna alata</i> "mutuy" y <i>Senna birostris</i> que crece en los jardines de la UNSCH y en el distrito de Chiara, Ayacucho, respectivamente.</p> <p>Muestra: 1.kg de hojas y flores de <i>Senna alata</i> y <i>Senna birostris</i>.</p> <p>Recolección y secado de la muestra</p> <p>Extracción hidroalcohólica</p> <p>Cuantificación de antraquinonas Técnica instrumental HPLC</p> <p>Análisis de datos. Medidas de tendencia central y de distribución de las cantidades de antraquinonas halladas a un nivel de significación estadística de 95%.</p>