

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Contenido de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies del género *Senecio* y determinación de su actividad antioxidante *in vitro*. Ayacucho, 2017.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR LA:

**Bach. VARGAS PAUCAR, Hada Edith**

Ayacucho-Perú

2018



A mis padres Yuri Manuel y Juana Rosa por su apoyo, comprensión y por ser mi ejemplo de lucha y trabajo.

A mis hermanos Yuri Kevin y Deivy Miguel por su paciencia, cariño, apoyo y confianza.

Y a todos mis amigos y amigas con lo que compartí esta bonita etapa de mi vida.

A todos ustedes con gratitud y amor.



## **AGRADECIMIENTO**

A mi *Alma Mater* Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme albergado cinco años en sus aulas y por ser forjador de excelentes profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, a los excelentes docentes que en ella laboran, quienes contribuyeron en mi formación y haberme brindado las herramientas necesarias para mi desenvolvimiento profesional. A los docentes que día a día se comprometen más con el desarrollo profesional de los alumnos.

Al Mg. Q.F. Enrique AGUILAR FELICES, por su valiosa colaboración, apoyo, ayuda y asesoramiento en la dirección de esta Tesis, por su apoyo, dedicación y brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, fundamentales.

Al Mg. Q.F. Marco R. ARONES JARA, docente de la EFP de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH, sugerencias y dedicación.

Al Mg. Q.F. Edgar CÁRDENAS LANDEO, docente de la EFP de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH, por su constante apoyo y sugerencia.



## ÍNDICE

	Página
ÍNDICE ABREVIATURAS EMPLEADAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN	xix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Antecedentes del estudio	5
2.2 <i>Senecio collinus</i> DC.	9
2.3 <i>Senecio adenophylloides</i> Sch. Bip.	10
2.4 <i>Senecio graveolans</i> Weed.	11
2.5 Compuestos fenólicos	13
2.5.1 Flavonoides	13
2.5.2 Ácidos fenólicos	15
2.6 Actividad antioxidante	16
2.6.1 Radicales libres	16
2.6.2 Estrés oxidativo	17
2.6.3 Antioxidante	17
III. MATERIALES Y METODO	25
3.1 Ubicación del trabajo de investigación	25
3.2 Definición de población y muestra	25
3.3 Metodología y recolección de datos	25
3.4 Determinación de fenoles totales	26
3.5 Determinación de flavonoides totales	27
3.6 Determinación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i>	28
3.6.1 Ensayo de DPPH	28
3.6.2 Ensayo de captación de radical libre ABTS <sup>+</sup>	29
3.6.3 Ensayo de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	31
IV. RESULTADOS	33
V. DISCUSIÓN	41
VI. CONCLUSIONES	49
VII. RECOMENDACIONES	51
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
IX. ANEXOS	57





## ABREVIATURAS EMPLEADAS

AH	Antioxidante
RL	Radical libre
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazina
UV-VIS	Ultravioleta visible
UV-IR	Ultravioleta infrarrojo
A $\lambda$	Absorción leída en espectrofotómetro
Absi	Absorbancia inicial
Absf	Absorbancia final
°C	Grado centígrado o Celsius
EAG	Equivalente a Ácido gálico
EQ	Equivalente a Quercetina
TEAC	Capacidad antioxidante equivalente al Trolox
RU	Rutina
H	Hora
Min	Minuto
L	Litro
ml	Mililitro
g	Gramo
mg	Miligramo
P.M.	Peso molecular
r	Coefficiente de correlación
rpm	Revolución por minuto
$\mu$ g	Microgramo
$\mu$ L	Microlitro
$\mu$ M	Micromol



## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción por transferencia de electrones (ET) y transferencia de átomos e hidrogeno (HAT).	20
Tabla 2. Presencia de compuestos fenólicos en las hojas de las tres especies del género Senecio.	35
Tabla 3. Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en las hojas de las tres especies del género Senecio.	36
Tabla 4. Actividad antioxidante de las tres especies del género Senecio.	37
Tabla 5. Concentración inhibitoria 50 (CI <sub>50</sub> ) de las hojas de las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.	38
Tabla 6. Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox de las hojas de las tres especies del género Senecio a diferentes concentraciones. Ayacucho 2017.	39



## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Senecio collinus</i> DC. "jarhuancho"	9
Figura 2. <i>Senecio adenophylloides</i> sch. Bip. "wiskataya"	10
Figura 3. <i>Senecio graveolens</i> weed. "chachacoma", "wiskataya"	11
Figura 4. Núcleo básico de un flavonoides.	14
Figura 5. Clasificación de los flavonoides.	15
Figura 6. Estructura de los ácidos benzoicos.	16
Figura 7. Estructura de los ácidos cinámicos.	16
Figura 8. Clasificación de los antioxidantes.	19
Figura 9. Mecanismo de reacción por transferencia de electrones (ET) y transferencia de átomos e hidrogeno (HAT).	21
Figura 10. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.	21
Figura 11. Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante	22
Figura 12. Mecanismo de reacción en el método FRAP	23



## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip. Ayacucho 2017	59
Anexo 2. Certificado de identificación botánica <i>S. graveolens</i> Weed. Ayacucho 2017	60
Anexo 3. Certificado de identificación botánica de <i>S. collinus</i> DC. Ayacucho 2017	61
Anexo 4. Plantas recolectadas de las tres especies del género senecio: <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. Ayacucho 2017.	62
Anexo 5. Obtención de los extractos de las hojas de las tres especies del género Senecio: <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	63
Anexo 6. Extractos secos de las hojas de las tres especies del género Senecio: <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	64
Anexo 7. Solución patrón de las tres especies del género Senecio: <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	65
Anexo 8. Identificación de fenoles en las muestras de las tres especies del género Senecio: <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	66
Anexo 9. Identificación de flavonoides en las muestras de tres especies del género Senecio: <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	67
Anexo10. Protocolo para determinación de fenoles totales de las hojas de las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.	68
Anexo 11. Protocolo para determinación de flavonoides totales de las hojas de las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.	69
Anexo 12. Protocolo para determinación de la capacidad antioxidante por el ensayo DPPH, en las hojas de las tres especies del género Senecio. <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. Ayacucho 2017.	70

Anexo 13.	Protocolo para determinación de la capacidad antioxidante por el ensayo ABTS, en las hojas de las tres especies del género Senecio. <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. Ayacucho 2017.	71
Anexo 14.	Protocolo para determinación de la capacidad antioxidante por el ensayo FRAP en las hojas de las tres especies del género Senecio. <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. Ayacucho 2017.	72
Anexo 15.	Dilución del estándar ácido gálico para la cuantificación de fenoles totales en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	73
Anexo 16.	Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales con Ácido Gálico. Ayacucho 2017.	74
Anexo 17.	Muestras para la cuantificación de fenoles totales de las tres especies del género Senecio: <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	75
Anexo 18.	Dilución del estándar quercetina para la elaboración de la curva de calibración en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	76
Anexo 19.	Curva de calibración de Quercetina para la cuantificación de flavonoides totales. Ayacucho 2017.	77
Anexo 20.	Muestras para la determinación de contenido de flavonoides totales: <i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip., <i>S. graveolens</i> Weed, <i>S. collinus</i> DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	78
Anexo 21.	Dilución del radical libre DPPH para la elaboración de la curva de calibración del Trolox en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	79
Anexo 22.	Variación de la actividad antioxidante en función de las concentraciones de Trolox en el método DPPH. Ayacucho 2017.	80
Anexo 23.	Dilución del radical libre ABTS** para la elaboración de la curva de calibración del Trolox en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	81
Anexo 24.	Variación de la actividad antioxidante en función de las concentraciones de Trolox en el método ABTS. Ayacucho 2017.	82
Anexo 25.	Dilución del poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) para la elaboración de la curva de calibración del Trolox en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.	83
Anexo 26.	Variación de la actividad antioxidante en función de las concentraciones de Trolox en el método ABTS. Ayacucho 2017.	84



Anexo 27.	Análisis de varianza de fenoles y flavonoides totales de las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.	85
Anexo 28.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para determinar la diferencia significativa del contenido de fenoles y flavonoides totales en las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017	86
Anexo 29.	Análisis de varianza de los porcentajes de actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto etanólico de las hojas de las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.	87
Anexo 30.	Análisis de varianza de los porcentajes de actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS** del extracto etanólico de las hojas de las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017	88
Anexo 31.	Análisis de varianza de los porcentajes de actividad antioxidante mediante la reducción del ion férrico Fe <sup>+3</sup> a ferroso Fe <sup>+2</sup> del extracto etanólico de las hojas de las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.	89
Anexo 32.	Matriz de consistencia. Ayacucho 2017	90



## RESUMEN

Las plantas del género *Senecio* son plantas nativas del Perú utilizadas en medicina tradicional por ser antiespasmódico, antiinflamatorio, y para tratar el mal de altura. El presente trabajo tuvo por objetivo comparar la actividad antioxidante *in vitro* de las hojas de tres especies del género *Senecio*. El contenido de fenoles y flavonoides totales fueron determinados por los métodos de Folin ciocalteu y Cloruro de aluminio respectivamente; y la actividad antioxidante se determinó utilizando los métodos del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y el método del radical ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS\*); y la capacidad reductora del hierro (FRAP). El *S. adenophylloides* Sch. Bip. mostró mayor contenido de fenoles y flavonoides totales  $63,076 \pm 0,25$  mg EAG/g de muestra seca y  $64,15 \pm 1,99$  mg EQ/g de muestra seca respectivamente. La concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) del extracto etanólico de las hojas de las tres especies del género *Senecio* sobre el radical DPPH, ABTS, FRAP fueron; para el DPPH mostraron un CI<sub>50</sub>:  $27,22 \pm 0,15$ ;  $33,86 \pm 0,16$  y  $38,11 \pm 0,84$  µg/mL para *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolans* Weed y *S. collinus* DC. respectivamente; para ABTS mostraron un CI<sub>50</sub>:  $29,85 \pm 0,12$ ;  $44,08 \pm 0,02$  y  $52,56 \pm 0,03$  µg/mL para *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolans* Weed y *S. collinus* DC. respectivamente y para FRAP mostraron un CI<sub>50</sub>:  $5,49 \pm 0,04$ ;  $7,85 \pm 0,07$  y  $6,23 \pm 0,03$  µg/mL para *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolans* Weed y *S. collinus* DC. respectivamente. Concluyendo que el *S. adenophylloides* Sch. Bip. Posee mayor actividad secuestradora de los radicales libres DPPH, ABTS y mayor capacidad reductora del hierro (FRAP).

**Palabras clave:** Antioxidante, Género *Senecio*, Fenoles totales, Flavonoides totales, DPPH, ABTS, FRAP.



## I. INTRODUCCIÓN

Senecio, es uno de los géneros más diversos de plantas con flores, con más de 1250 especies, de distribución cosmopolita, a excepción de la Antártida, presentando la mayor concentración y riqueza en los Andes sudamericanos y al Sur de África. Las especies de Senecio son morfológicamente variables, especialmente en las hojas, así como en las formas de crecimiento, que van desde hierbas anuales y perennes, sufrútices hasta arbustos. Para el Perú han sido registradas 177 especies, las que ocupan diversos ambientes ecológicos, desde la costa desértica, lomas, matorrales xerofíticos, valles interandinos hasta la puna, en el límite de la vegetación. Muchas de estas especies presentan distribución restringida y están consideradas como endémicas. Recientemente 94 especies endémicas de Senecio para el Perú han sido evaluadas y categorizadas según los criterios de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza).<sup>1</sup> La importancia de los polifenoles en salud humana ha sido ampliamente revisada. No obstante, uno de los aspectos críticos de la investigación sobre la capacidad antioxidante de productos naturales se relaciona con la elección de las herramientas de medición. Cada vez es necesario contar con una batería de ensayos que nos permitan obtener información complementaria. El uso de radicales estables coloreados como el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Acido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), o reactivos como el complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ); se recomiendan como criterio preliminar para jerarquizar las distintas plantas, extractos o fracciones de éstos, de acuerdo a su poder antioxidante. Dado que en los ensayos mencionados ocurren reacciones de transferencia de electrones y/o hidrógeno, el adecuado conocimiento de la química de tales sistemas es condición *sine qua non* para interpretar correctamente los resultados, particularmente cuando estos ensayos se aplican a muestras de fluidos biológicos.<sup>2</sup> Por la capacidad de detener o retardar procesos oxidativos, los cuales pueden causar daños en las células o

afectar la preservación de productos, los compuestos con actividad antioxidante tienen una gran aplicación en el campo de los alimentos, la industria, la medicina, la cosmética, entre otros. En la búsqueda de nuevos compuestos con dicha actividad nos enfocamos en un grupo de plantas poco estudiado a nivel fitoquímico y que presenta ciertas características que le confieren especial interés. Se ha reportado para este tipo de plantas estructuras químicas que pueden presentar dicha actividad. Entre estas se encuentran los flavonoides, que han demostrado ser los responsables de la actividad antioxidante en muchos extractos de plantas.<sup>3</sup> Los radicales libres son moléculas o fragmentos de moléculas caracterizadas por tener uno o más electrones desapareados en su orbital externo, condición que los torna altamente reactivos. En los seres vivos existen sistemas de defensa antioxidante que tienen la propiedad de impedir la acción nociva de los radicales libres, habiéndose identificado compuestos con propiedades antioxidantes de naturaleza enzimática como la catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, etc., así como, sustancias no enzimáticas: ascorbato, ferritina, ceruloplasmina, polifenoles, antocianinas. Cuando la defensa antioxidante es insuficiente para proteger el organismo del efecto dañino de los radicales libres puede conducir al estrés oxidativo, condición que está estrechamente vinculado a una gran diversidad de patologías como la psoriasis, cáncer, diabetes mellitus, aterosclerosis, cataratas, hipertensión arterial, artritis reumatoidea, formas de anemia.<sup>4,5</sup>

Los radicales libres no son completamente dañinos, ya que nuestro propio organismo los fabrica en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus. Los radicales libres producidos por el cuerpo para llevar a cabo determinadas funciones son neutralizados fácilmente por nuestro propio sistema antioxidante.<sup>5</sup>

El problema para nuestras células se produce cuando se da un exceso sostenido de radicales libres en nuestro sistema, a través de los años, situación en la cual nuestro sistema antioxidante requiere de los antioxidantes de la dieta. El incremento de los radicales libres por encima de la cantidad de sustancias antioxidantes, conduce al estrés oxidativo, lo que produce daño celular.<sup>6</sup>

Los antioxidantes derivados de las plantas desde el punto de vista fitoquímico pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavonas, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidró-

genos y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas.<sup>7</sup>

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivos generales**

Comparar la actividad antioxidante *in vitro* de tres especies del género Senecio.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

- Comprobar la presencia de fenoles y flavonoides en las tres especies del género Senecio.
- Determinar el contenido de flavonoides y fenoles totales.
- Determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto obtenido de las hojas de las tres especies del género Senecio.





## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES

Desde el punto de vista de Albayrak y col., quienes realizaron la investigación: A comparative study on antioxidant and antimicrobial activities of four *Senecio* L. Species from Turkey publicado el año 2015, para investigar los contenidos fenólicos totales, las actividades antioxidantes y antimicrobianas de cuatro *Senecio* L. (Asteraceae), se utilizó las partes aéreas de las plantas. Los resultados de este estudio mostraron que todas las especies de *Senecio* evaluadas eran ricas en contenido fenólico y tenían una potente actividad antioxidante medida por diferentes métodos como la eliminación de DPPH, reducción de Mo (VI) a Mo (V) e inhibición del ensayo de decoloración de  $\beta$ -caroteno. Se utilizó la técnica de observación directa, medición y registro de la absorbancia en una ficha o libreta. Todas las especies de *Senecio* probadas podrían ser una buena fuente de antioxidantes naturales y agentes antibacterianos. En conclusión, se puede recalcar que los extractos de *Senecio* se pueden considerar fuentes naturales en muchas industrias, como alimentos y farmacia.<sup>8</sup>

En el presente trabajo de investigación realizados por Stankovic y col.: Antioxidant activity, total phenolic content and flavonoid concentrations of different plant parts of *Teucrium polium*. Subsp. *Polium* publicado en el año 2012, determinaron el contenido fenólico total, la concentración de flavonoides y la actividad antioxidante *in vitro* de veinte extractos diferentes de la planta entera y partes de la planta (hojas, flores y tallos) de *Teucrium polium*, El contenido total de fenoles osciló entre 14,57 y 157,84 mg de GAE/g de extracto. Las concentraciones de flavonoides variaron de 6,48 a 139,87 mg de Ru/g de extracto. La actividad antioxidante se determinó *in vitro* usando reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y se expresó como concentración de cada extracto requerido para inhibir el radical en valores del 50% (CI<sub>50</sub>) que oscilaban entre 26,30 y 2190,75  $\mu$ g/ml. El extracto de hojas metanólicas contiene la mayor concentración de compuestos

fenólicos (157,84 mg de GaA / g) y mostró una fuerte actividad antioxidante ( $CI_{50} = 26,30 \mu\text{g} / \text{ml}$ ). Los extractos de ginkgo y té verde se analizaron para comparación, y los resultados indicaron que algunos extractos de *Teucrium polium* eran iguales en actividad con el Ginkgo o té verde y algunos parecían tener mayor actividad. Los resultados obtenidos describen una fuerte actividad antioxidante y una gran contribución de análisis separado para la máxima explotación de compuestos fenólicos activos de *Teucrium polium*. Con base en esta información, las partes de las plantas de esta planta son fuentes naturales de sustancias antioxidantes de alta importancia.<sup>9</sup>

En el presente trabajo de investigación realizados por Mesa y Col.: Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de la especie *Ageratum conyzoides* L. publicado en el año 2015, evaluaron por diferentes métodos espectrofotométricos: ácido 2,2'azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS<sup>•+</sup>); 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) y capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC). Los extractos de las hojas de *Ageratum conyzoides* L., presentaron una buena actividad antioxidante en las metodologías evaluadas. El extracto más activo fue el de acetato de etilo ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ), que presentó los mejores valores por las técnicas evaluadas con la mayor potencia determinada por el ensayo ORAC con valores de (TEAC) =  $494048,95 \pm 29695,80 \mu\text{Mol Trolox}/100\text{g}$  muestra. Las mediciones de la actividad antioxidante por diferentes técnicas, ofrecen ventajas en términos de la predicción de la capacidad antioxidante *in vitro* de esta planta, además se recomienda explorar las características estructurales de los compuestos presentes en el extracto de acetato de etilo de esta planta con el fin de investigar los beneficios potenciales y los mecanismos de acción de posibles nuevos antioxidantes.<sup>10</sup>

En el presente trabajo de investigación realizado por Orjuela A.: Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de hojas *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) R.M. King & H. Robinson publicado el año 2015, determinó las actividades antioxidantes de los extractos y fracciones de las hojas de dicha especie, utilizando dos métodos de decoloración de los radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y ácido 2,2'azino-bis-(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS<sup>•+</sup>). Ambos métodos se utilizaron sobre los extractos de hojas (éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo y etanol) y fracciones de los extractos de hojas (éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo y metanol). Las

concentraciones usadas fueron 12.5, 25, 62.5 125 y 250 miligramos de extracto por litro de Metanol. Presentando mayor actividad antioxidante por el método DPPH y ABTS<sup>•+</sup> a la fracción metanol del extracto etanol con un IC<sub>50</sub> de 1.51 miligramos por litro de metanol por el ensayo de DPPH y 20.15 miligramos por litro de metanol para el ensayo de ABTS<sup>•+</sup> respectivamente, siguiéndole la fracción de acetato de etilo del extracto acetato de etilo con un IC<sub>50</sub> de 29.90 miligramos de extracto por litro de metanol por el ensayo de DPPH y 20.87 miligramos de extracto por litro de metanol por el método ABTS<sup>•+</sup>. Las fracciones con los solventes de menor polaridad por ambos métodos no presentan una actividad antioxidante.<sup>11</sup>

Desde el punto de vista de Tovar, J., quien realizó la investigación: Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecorregión cafetera publicado en el año 2013, estas muestras fueron recolectadas en la ecorregión cafetera Colombiana y se les realizó una extracción a las partes aéreas por maceración masiva y se evaluó su actividad antioxidante por medio de dos modelos *in vitro*, DPPH y ABTS; y se demostró que los resultados obtenidos soportan el planteamiento de que algunas plantas medicinales prometen ser fuentes de antioxidantes naturales y que la actividad antioxidante de dichos extractos está relacionada con la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos en la composición fitoquímica de la planta, que se pudo evidenciar en los espectros UV de los extractos. Los mejores resultados fueron obtenidos por *Tovomita guianensis* (Clusiaceae) con una actividad antioxidante de 54,97% y un alto contenido de flavonoides lo cual es muy prometedor y podría analizarse con más detalle como alternativa natural.<sup>12</sup>

Desde el punto de vista de Palomino G. y col. enfatizaron en su trabajo de investigación: Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia) publicado en el año 2009, se compara la calidad del extracto etanólico de propóleos (EEP) provenientes de diferentes regiones de Antioquia (Colombia), mediante la determinación del contenido de flavonoides y fenoles totales, y la actividad antioxidante *in vitro*, la cual es establecida empleando las técnicas de captura de los radicales DPPH y ABTS<sup>•+</sup> y la capacidad reductora de hierro (FRAP), se determinó el contenido de fenoles y flavonoides totales mediante métodos espectrofotométricos, y la actividad antioxidante. Se concluyó que los extractos etanólicos de los propóleos (EEP) provenientes de los municipios de

Betania BR, y Caldas CT, exhibieron un mayor contenido de compuestos fenólicos, los cuales podrían estar relacionados con la capacidad antioxidante de los mismos. En BR también se detectó el mayor contenido de flavonoides. En general, los propóleos con actividad antioxidante FRAP también exhibieron la mayor actividad captadora de los radicales DPPH y ABTS; se encontró una buena correlación entre estas actividades y el contenido de fenoles de los extractos.<sup>13</sup>

Desde el punto de vista de Ochoa y col. realizaron la investigación: Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya) publicado el año 2013, enfatizando que la utilización de estas plantas pertenecientes al género *Senecio* como plantas medicinales es debido a la presencia de diferentes clases de metabolitos secundarios, puesto que son ricos en monoterpenoides, sesquiterpenoides, flavonoides, entre otros. Utilizaron el aceite esencial, extraído por destilación por arrastre con vapor de agua, presento un alto rendimiento. El perfil cromatográfico obtenido para el aceite esencial mostro principalmente composición de monoterpenos y monoterpenos oxigenados, siendo el sabineno el componente mayoritario. La investigación llegó a la siguiente conclusión: se ha demostrado la actividad antibacteriana promisorio del aceite esencial de *S. graveolens* frente a las bacterias evaluadas.<sup>14</sup>

Desde el punto de vista de Zavala E., quien realizó la investigación: Capacidad antioxidante, regeneradora y el factor de protección solar de la cáscara de *Mangifera indica* L. "mango" publicado el año 2017, haciendo uso del método de extracción en un equipo Soxhlet utilizando etanol de 96° G.L. La capacidad antioxidante se evaluó mediante tres ensayos 2,2- difenil-1-picrihidrazilo (DPPH), poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) y sustancias reactivas de ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS); los valores se expresaron en equivalentes de Trolox por gramo de extracto liofilizado (mg ET/g), los valores oscilaron entre 141,70 ± 7,57 mg ET/g (mango criollo 1) y 385,76 ± 2,42 mg ET/g (mango criollo 2). Así mismo, se evaluó la capacidad regeneradora en planarias de agua dulce, siendo el "mango criollo 2" y "mango Edward" los que mostraron la mejor regeneración. Se determinó el factor de protección solar, siendo el "mango criollo 2" el que mostró el mayor valor (6,54 ± 0,02). La correlación entre la capacidad antioxidante y el factor de protección solar fue elevada y significativa (p<0,05). Sin embargo, el ensayo de sustancias reactivas de ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) mostró diferencias al relacionarse con la capacidad antioxidante y el factor de protección

solar.<sup>15</sup>

## 2.2 *Senecio collinus* DC.

### 2.2.1 Clasificación taxonómica

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Asteridae
Orden	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Género	: <i>Senecio</i>
Especie	: <i>Senecio collinus</i> DC.
Nombre Vulgar	: “jarhuancho”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas, UNSCH 2017.<sup>16</sup> (ANEXO 1)



Figura 1. *Senecio collinus* DC. “jarhuancho”

### 2.2.2 Descripción botánica

Arbusto de 20 a 50 cm de alto, densamente ramoso desde la base, con ramas ascendentes hojosas hasta la inflorescencia, con pequeñas ramitas cortas que salen de las axilas de las hojas superiores. Hojas alternas, enteras, agudas, con lóbulos lanceolados o triangulares. Capítulos discoides, numerosos, pedunculados, dispuestos en cimas corimbiformes en los extremos de las ramas. Involucro con bracteolas del cálculo numerosas. Flores, amarillas, con corola tubulosa. Fruto aquenio cilíndrico. Florece en verano.<sup>16</sup>

### 2.2.3 Usos en la medicina tradicional

Para el susto se realiza baños con el cocimiento de sus hojas, para el frío se calienta la planta en la olla y se frota el cuerpo. Para curar los bronquios se hace hervir las hojas y tomar su líquido hasta sanar.<sup>17</sup>

### 2.2.4 Composición química

No hay ningún resultado referente a su composición química.

## 2.3 *Senecio adenophylloides* Sch. Bip.

### 2.3.1 Clasificación taxonómica

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Asteridae
Orden	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Género	: Senecio
Especie	: <i>Senecio adenophylloides</i> sch. Bip.
Nombre Vulgar	: “wiskataya”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas, UNSCH 2017.<sup>16</sup> (ANEXO 2)



Figura 2. *Senecio adenophylloides* sch. Bip. “wiskataya”

### 2.3.2. Descripción botánica

*Senecio adenophylloides* sch. Bip (sinónimo *Senecio rufescens* DC)<sup>1</sup>, Arbusto de 20 - 80 cm de altura, muy ramificado, densamente glanduloso-pubescente, hojoso

hasta el ápice. Entrenudos de 2 - 5 cm de largo. Hojas alternas, de contorno oblanceolado, con lóbulos lanceolados o triangulares. Capítulos discoideos, agrupados en número de 2 - 4 en los extremos de las ramas, con pedúnculos cortos, bracteolados, glanduloso pubescentes. Flores amarillas y numerosas.<sup>16</sup>

### 2.3.3 Usos en la medicina tradicional

Se usa para dolores estomacales, mal de altura preparado en forma de mate, conocimiento obtenido por los habitantes del centro poblado San Felipe, ya que no hay estudios referentes a esta especie del género *Senecio* de su uso en la medicina tradicional en la actualidad.

### 2.3.4 Composición química

No existe referencia alguna de su composición química.

## 2.4 *Senecio graveolens* weed.

### 2.4.1 Clasificación taxonómica

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Asteridae
Orden	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Género	: <i>Senecio</i>
Especie	: <i>Senecio graveolens</i> weed.
Nombre Vulgar	: “chachacoma, wiskataya”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas, UNSCH 2016.<sup>16</sup> (ANEXO 3)



**Figura 3.** *Senecio graveolens* weed. “chachacoma, wiskataya”

#### **2.4.2 Descripción botánica**

*Senecio graveolens* weed (sinónimo *Senecio Nutans* sch. Bip.)<sup>1,18</sup>, que crece a más de 3 700 metros sobre el nivel del mar, arbusto aromático, perennifolio, que puede alcanzar alturas de 0,80 a 1,20 cm, cuenta con moderada masa foliar, es de raíz pivotante y tallo semileñoso, sus hojas son alternas abrazando el tallo, de 0,8 a 2 cm de largo (incluyendo el pecíolo), de 0,4 a 0,8 cm de ancho, el borde es dentado. Las flores son de cabezuelas discoidales, escasas a numerosas, de 6 a 10 mm de alto, sobre pedúnculos de 0.2 a 1.5 cm de largo, bractéolada, cilíndrica o ligeramente campanulada, receptáculo plano o ligeramente convexo, de color amarillas o amarillo rojizas. Los frutos y semillas son aquenios maduros elipsoides a subcilíndricos.<sup>13</sup>

#### **2.4.3 Usos en la medicina tradicional**

Como medicina tradicional, se utiliza la infusión de tallos y hojas para dolores estomacales y mal de altura (soroche),<sup>19</sup> el exceso de esta planta causa la ceguera. También se recomienda para la fiebre, tos y resfriado fuerte, sirve para preparar pomadas para los dolores y en algunos casos la molienda de sus hojas se mezcla con otras pomadas (mentholatum, pomada alcanforada). Remedio para problemas urinarios.<sup>13,19</sup>

El uso en medicina tradicional de *S. nutans* en Chile, Bolivia y Argentina una gran importancia, el cocimiento de las hojas se usa como tónico cerebral, y el de hojas y tallos se usa en fomentos contra los dolores reumáticos y artríticos. La infusión se usa para la bronquitis, asma, afecciones pulmonares, dolores de estómago, náuseas, problemas cardiovasculares, y para regularizar la menstruación.<sup>19</sup>

#### **2.4.4 Composición química**

Existe pocos estudios de sus compuestos fenólicos en extractos de la planta, en dicho reporte del extracto etanólico de *S. graveolens* determinaron que el compuesto principal es 4-hidroxi-3- (3-metil-2-butenil) acetofenona, es uno de los compuestos activos responsable de su actividad antibacteriana.<sup>20</sup>

Existe reporte de composición química en su aceite esencial encontrando hidrocarbano monoterpeno sabineno (52,39%) seguido de (+)-4-careno (8,20%),  $\gamma$ -terpineno (7,11%),  $\beta$ -mirceno (6,74%), y algunos monoterpenos con grupos funcionales, tales como, 5- isopropil-2-metilbicyclo [3.1.0] hexano-2-ol (3,78%), 4-terpineol (3,78%) y pulegona (3,67%). Estudios relacionados a la composición química de aceites esenciales del género *Senecio*, relatan cómo constituyentes principales a los monoterpenoides y sesquiterpenoides.<sup>13</sup>



## **2.5 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos se refieren a un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, y que ocurren frecuentemente como glicósidos combinados con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua; pueden ser detectados por el intenso color verde, púrpura, azul o negro, que producen cuando se les agrega una solución acuosa alcohólica al 1% de cloruro férrico. Dada la naturaleza aromática de estos compuestos fenólicos, ellos muestran intensa absorción en la región UV del espectro, siendo este método espectral especialmente importante para su identificación y análisis cuantitativo. Así mismo, muestran desplazamiento batocrómico característico en presencia de álcalis.<sup>21</sup>

### **2.5.1 Flavonoides**

Los flavonoides y los compuestos relacionados (antocianinas, catequinas y leucoantocianidinas) proceden del metabolismo secundario de los vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y la ruta de los policétidos.<sup>22</sup>

Los flavonoides son compuestos, generalmente amarillos que se encuentran en los jugos celulares y en los pétalos de las flores de algunas plantas en forma de glucósidos de diversos azúcares (glucosa, galactosa, ramnosa o una pentosa) y cuyos aglicones son derivados del núcleo fundamental de la fenilbenzopirona. Estos compuestos son metabolitos secundarios de las plantas, cuyo papel fisiológico, en ellas, no se conoce bien. Muchos de ellos se hallan en la corteza de los árboles (roble, nogal, morena, etc.) y se han utilizado como colorantes naturales, otros tienen carácter vitamínico y aplicaciones terapéuticas.<sup>23</sup>

Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y/o glicósidos, aún de las diferentes clases siendo este último más común; en muchos casos, debido a la complejidad de la mezcla es más frecuente el estudio de estos compuestos en forma de agliconas en extractos de plantas previamente hidrolizados. Se hallan presente en todas las partes de las plantas, algunas clases se encuentran más ampliamente distribuidas que otras, siendo más comunes las flavonas y flavonoles, y más restringidas en su ocurrencia las isoflavonas, las chalconas y auronas. Al año 1990 se conocen alrededor de 3000 flavonoides, entre ellos 450 flavonoles, 300 flavonas, 150 isoflavonas, 60 chalconas, 20 auronas, etc.<sup>21</sup>

#### **2.5.1.1 Distribución**

Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y

se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores, sobre todo, en partes aéreas: hojas, flores y frutos. Algunos flavonoides son los responsables del color amarillo de ciertas flores. Las principales familias que contienen flavonoides son: Rutáceas, Polygonáceas, Compuestas y Umbelíferas.<sup>22</sup>

### 2.5.1.2 Estructura

Los flavonoides son estructuras del tipo  $C_6 - C_3 - C_6$ , con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos cicladas a través de un oxígeno. Se considera que su estructura deriva de la  $\gamma$ -cromona (o benzo- $\gamma$ -pirona) con un fenilo en posición 2. Así pues, son 2-fenil- $\gamma$ -cromonas. Todos los flavonoides poseen un carbonilo en la posición 4 y las variaciones se producen en las posiciones 1, 2 y 3 de la unidad  $C_3$  y en el anillo B. son estructuras hidroxiladas (OH) en el anillo aromático y, por lo tanto, son polifenólico. Se pueden encontrar como aglicones libres o en forma de O-heterósidos o C-heterósidos, unidos generalmente a glucosa, que es el azúcar más frecuente. De los tres anillos, el anillo A se biosintetiza a través de la ruta de los policétidos y el anillo B y la unidad  $C_3$  (que forma el anillo C) proceden de la ruta del ácido shikímico.<sup>22</sup>

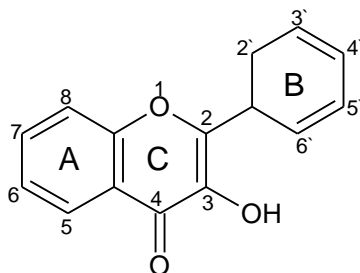


Figura 4. Núcleo básico de un flavonoide.<sup>21</sup>

### 2.5.1.3 Clasificación

Los flavonoides se clasifican en base a sus variaciones estructurales:<sup>22</sup>

a) Con doble enlace entre las posiciones 2 y 3.

Flavona: con H en la posición 3.

Flavonol: con OH en la posición 3

b) Sin doble enlace entre las posiciones 2 y 3.

Flavonona: con H en la posición 3.

Flavononol: con OH en la posición 3

c) Chalconas: con el anillo C abierto.

d) Isoflavonoides con el anillo B en la posición 3 (3-fenil- $\gamma$ -cromona).<sup>22</sup>

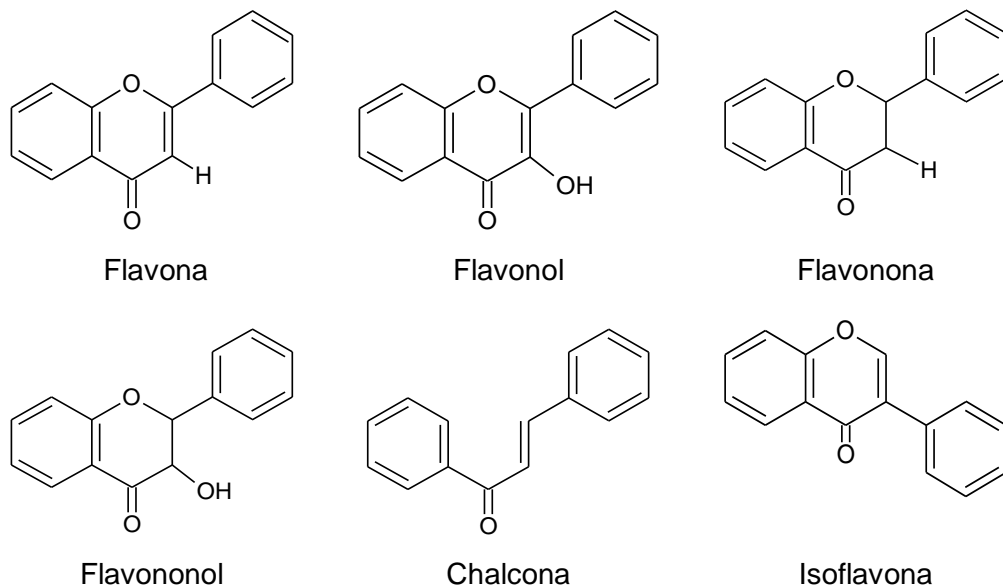


Figura 5. Clasificación de los flavonoides.<sup>23</sup>

#### 2.5.1.4 Actividad terapéutica

Las diferentes especies que contienen flavonoides poseen actividad farmacológica muy variada: acción vitamina P, antihemorrágico, antiarrítmico, protectores de la pared vascular o capilar, antiinflamatorios, antirradicales libres, antihepatotóxicos, antibacterianos, antivíricos y antifúngicos, diuréticos y antiurémico, antiespasmódicos.<sup>22</sup>

#### 2.5.2 Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos constituyen un amplio grupo de compuestos orgánicos, distribuidos en la naturaleza y muestran un amplio espectro de actividades farmacológicas; estos han reportado propiedades antioxidantes, antimutagénicas, antitumorales y anticarcinogénicas.<sup>24</sup>

Las estructuras fenólicas son metabolitos secundarios que pueden proceder de la ruta del ácido shikímico o de la ruta del acetato.

- Proceden de la ruta del ácido shikímico: fenoles sencillos, ácidos fenólicos (benzoicos, cinámicos, etc.), cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianos y taninos.<sup>22</sup>
- Proceden de la ruta de los acetatos o ruta del ácido mevalónico, los siguientes derivados fenólicos: antraquinonas y heterósidos antracénicos.<sup>22</sup>

##### 2.5.2.1 Fenoles sencillos

Los fenoles sencillos son poco frecuentes y están en la planta en forma de heterósidos. Sus propiedades se comentarán junto con las propiedades de los ácidos fenólicos.<sup>22</sup>

Los principales fenoles sencillos son:

- Arbutósido: se encuentra en las hojas de gayuba (*Arctostaphylos uva-ursi*) y por hidrólisis produce hidroquinona y glucosa.
- Vainillósido: se obtiene de los frutos de la vainilla (*Vainilla fragans*). El vainillósido produce por hidrólisis vainillina y glucosa.
- Salicósido: se encuentra en la corteza de sauce (*Salix alba*). Cuando se hidroliza el salicósido libera alcohol salicílico y glucosa.<sup>22</sup>

### 2.5.2.2 Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos se pueden agrupar en:

- Derivados del ácido benzoico, C<sub>6</sub> - C<sub>1</sub>: ácido salicílico, ácido gálico.



Figura 6. Estructura de los ácido benzoico.<sup>22</sup>

- Derivados de ácido cinámico: C<sub>6</sub> - C<sub>3</sub>: ácidos orto y para-cumárico, ácido cafeíco.<sup>22</sup>

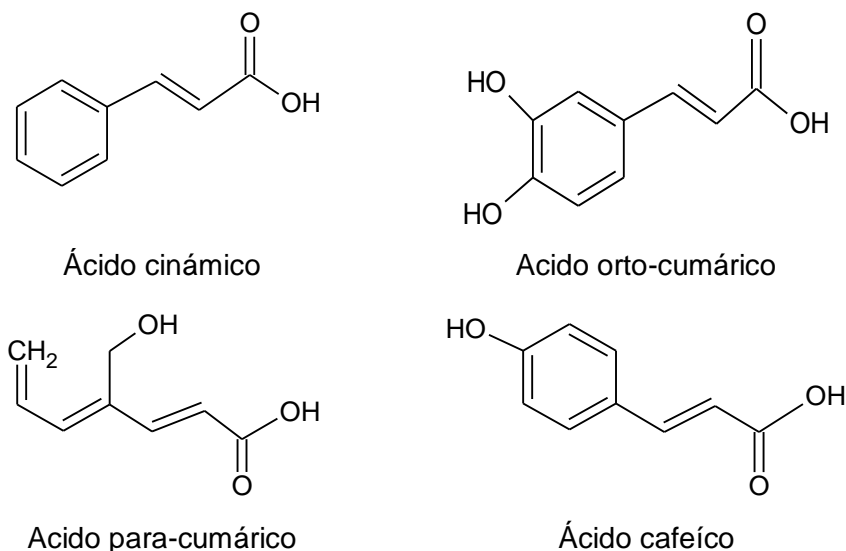


Figura 7. Estructura de los ácido cinámico.<sup>22</sup>

## 2.6 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

### 2.6.1 Radicales libres

Los radicales libres se definen como cualquier especie química capaz de existir

de forma independiente y que presenta uno o más electrones desapareados en su estructura, por lo tanto son altamente reactivos; también son conocidos como especies reactivas del oxígeno y especies reactivas del nitrógeno. Éstos pueden producir daño oxidativo en macromoléculas biológicas como el DNA, lípidos, carbohidratos y proteínas. Estos participan en los mecanismos fisiopatológicos de muchas enfermedades, tales como: cáncer, diabetes, patologías cardiovasculares, procesos reumáticos, patologías gastroentéricas, afecciones broncopulmonares o procesos neurodegenerativos. También están implicados en procesos fisiológicos como el envejecimiento, el daño causado por el ejercicio físico agotador y otros.<sup>2</sup>

Los radicales libres son sustancias químicamente estructuradas con uno o varios electrones, que poseen la propiedad de formar una reacción en cadena que conforman más radicales libres, producto de que sus electrones no están apareados y, al no tener carga eléctrica o iones pueden, al unirse con otros elementos químicos, reaccionan a grandes velocidades. Los radicales libres están clasificados para su estudio como: Especies reactivas de Oxígeno (ERO<sub>2</sub>), y se determinan como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrógeno), O<sub>2</sub> (anión superóxido), RO (peroxilo), HClO (ácido hipocloroso).<sup>25</sup>

### **2.6.2 Estrés oxidativo**

No hay que confundir este mecanismo celular con el estrés cotidiano derivado de las problemáticas que enfrenta el organismo humano en su vida diaria (trabajo, familia, trámites, entre otras). El estrés oxidativo es un término asociado a las células y a la acción de un radical libre que le afecta, así en condiciones normales se da un equilibrio entre la producción de radicales libres u otras especies reactivas con los mecanismos antioxidantes (exógeno y endógeno). Este equilibrio permite que la toxicidad por oxidación sea menor y con menos daño celular. Cuando se rompe el equilibrio, éste se podrá asociar con un déficit en el sistema antioxidante o por la proliferación descontrolada de los radicales libres.<sup>26</sup>

Es un estado generado por el desequilibrio entre la producción de radicales libres, especies prooxidantes y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente las especies reactivas intermedias o reparar el daño resultante. El estrés oxidativo está involucrado en el desarrollo de enfermedades crónicas y degenerativas, como el cáncer, artritis, envejecimiento, desordenes autoinmune, enfermedades cardiovascular y neurodegenerativa.<sup>27</sup>

### **2.6.3 Antioxidante**

El estudio de la capacidad antioxidante de las plantas medicinales y alimenticias ha crecido en las últimas décadas ya que un número importante de productos obtenidos de éstas, como los aceites esenciales, alcaloides y los polifenoles, poseen efectos antioxidantes los cuales son evidenciados mediante diferentes ensayos *in vitro* e *in vivo* asociadas a cada uno de ellos. Por su elevado consumo a través de la dieta y la presencia ubicua en muchas especies vegetales, el potencial de los polifenoles como agentes antioxidantes ha sido el más estudiado. Los antioxidantes son compuestos que pueden inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas inhabilitando la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres. Podemos distinguir dos categorías: sintéticos y naturales.<sup>2</sup>

Los primeros son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquílica, mientras que los segundos pueden ser: compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminas) o carotenoides.<sup>2</sup>

Las sustancias conocidas como antioxidantes neutralizan a los radicales libres uniéndose a sus electrones libres. Entre los antioxidantes que se encuentran en suplemento están las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa; las vitaminas A, C y E, el betacaroteno, el micromineral selenio. Los antioxidantes ayudan a desintoxicar y a proteger el organismo porque destruyen a los radicales libres.<sup>28</sup>

### **2.6.4 Sistema de defensa antioxidante**

Las reacciones de oxidación son esenciales en los procesos metabólicos celulares. Dichas reacciones involucran la transferencia de electrones que producen radicales libres. Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que neutralicen los radicales libres. A estas defensas se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar con un radicales libres.<sup>29</sup>

Ante un incesante daño que ejercen los radicales libres en los sistemas vivos la naturaleza ha brindado diferentes fuentes de protección que permiten mediar este daño. Estos sistemas, de acuerdo a su origen, pueden clasificarse como endógenos y exógenos (Ver figura 8).<sup>30</sup>

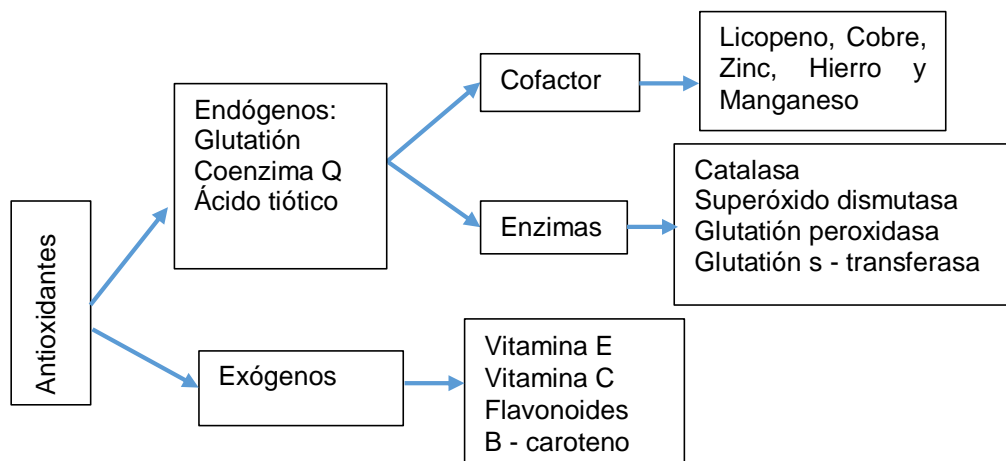


Figura 8. Clasificación de los antioxidantes (Craig, 2009)<sup>30</sup>

Los sistemas de defensa antioxidante endógeno consisten en una serie de elementos biológicos que brindan protección ante la producción continua de radicales libres generados por funciones celulares como la respiración y síntesis de ATP a nivel mitocondrial; el sistema antioxidante endógeno, a su vez, se divide en enzimático y no enzimático. El primero lo constituyen las enzimas antioxidantes: Superóxido dismutasa, Catalasa, Glutación peroxidasa, glutación reductasa, glutación s - transferasa, entre los más importantes. El segundo lo integran el glutación, la coenzima Q y el ácido tiótico o lipoico.<sup>30</sup> El sistema de defensa antioxidante exógeno se forma por todos los elementos provistos del medio ambiente (alimentos, plantas, etc.) que han sido sometidos a estudios científicos y se les ha identificado actividad antioxidante. Entre los más estudiados se encuentran la vitamina E, vitamina C, carotenos y polifenoles.<sup>31</sup> Y algunos elementos, como por ejemplo el selenio, el manganeso o el magnesio, producen efectos antioxidantes pero no tienen propiedades antioxidantes. Forman parte de mecanismos de defensa endógenos pero no sufren alteraciones cuando desempeñan sus funciones.<sup>32</sup>

### 2.6.5 Medición de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante no puede ser medida directamente, pero puede determinarse por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado. La medición de una muestra oxidante, pueden usarse intermediarios o productos finales para valorar la actividad antioxidante.<sup>33</sup> La actividad antioxidante de una muestra no puede ser determinada basándose solo en un ensayo de prueba. En la práctica se realizan muchos modelos de test *in vitro*

(tabla 1.) para evaluar la actividad antioxidante de la muestra de interés; sin embargo, es necesario considerar que los modelos presenten diferentes variaciones puede dificultar un poco la comparación de los resultados entre un método y otro.<sup>33</sup>

Con base a las reacciones químicas, la gran mayoría de los ensayos para determinar de capacidad antioxidante pueden ser divididos en dos categorías:

- Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET) y
- Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)<sup>33</sup>

Tabla 1. Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción ET y HAT .<sup>33</sup>

ENSAYO	CATEGORÍA
ácido 2,2'azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS <sup>+</sup> )	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)	
Poder de reducción antioxidante del hierro ( FRAP)	
N,N- dimetil-p- fenilendiamina (DMPB)	
Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)	
Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP)	
Inhibición de la oxidación del ácido linoleico	
Inhibición de la oxidación de los lípidos de baja densidad (LDL)	

Los ensayos basados en la transferencia de electrones (ET) involucran una reacción redox con el oxidante como un indicador del punto final de la reacción. La mayoría de los ensayos basados en HAT monitorean una reacción cinética competitiva, generalmente están compuestos de un generador de radical libre sintético, una prueba molecular oxidable y un antioxidante. Los ensayos basados en HAT y ET fueron desarrollados para medir la capacidad de atrapar radicales libres, en lugar de la capacidad preventiva antioxidante de una muestra. En la figura 9 se muestran las reacciones específicas para los ensayos basados en la transferencia de electrones y en la transferencia de átomos de hidrógeno.<sup>33</sup>

En los últimos años se han adoptado un amplio rango de ensayos espectrofotométricos para medir la capacidad antioxidante de los alimentos, muestras biológicas y extractos vegetales. Usualmente los ensayos antioxidantes *in vitro* utilizan un captador de radicales libres y son relativamente sencillos de



realizar. Entre los ensayos de captación de radicales libres, el método DPPH es el más rápido, es simple (no incluye muchos pasos) y de menor costo en comparación con otros modelos. Por otro lado, el ensayo de decoloración ABTS<sup>•+</sup> se puede aplicar a antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos. Por lo anterior, estos dos métodos son los más utilizados.<sup>33</sup>

### Ensayo ET



### Ensayo HAT



Figura 9. Mecanismos de reacción por transferencia de electrones y transferencia de átomos de hidrógeno.<sup>33</sup>

#### 2.6.5.1 Ensayo del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en etanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno como se muestra en la figura 7, el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes. Después de aproximadamente tres décadas este ensayo comenzó a utilizarse rutinariamente para la caracterización de las propiedades antioxidantes.<sup>12</sup>

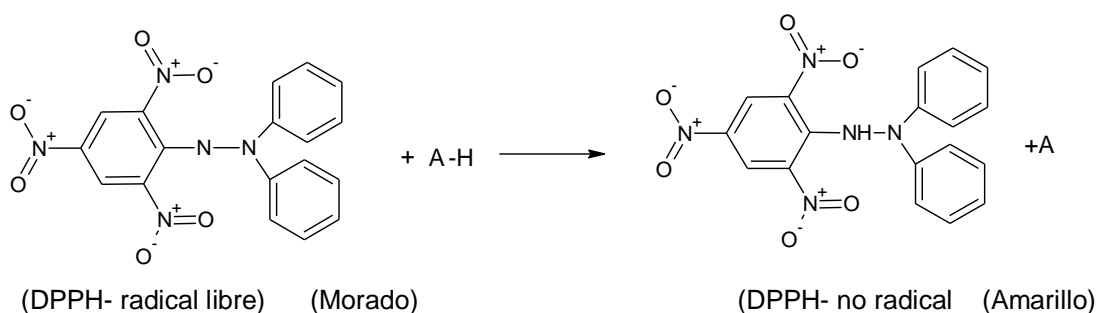


Figura 10. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante

Fuente: Parimelazhagan T. Pharmacological assays of plant-based natural products. 2015  
 Los resultados del ensayo DPPH se han presentado de diferentes maneras. La mayoría de los estudios expresan los resultados como el valor de la concentración

máxima de la media inhibitoria ( $CI_{50}$ ), definido como la cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50%. Este valor se calcula graficando el porcentaje de inhibición contra la concentración del extracto.<sup>12</sup>

### 2.6.5.2 Ensayo ABTS<sup>•+</sup> (Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6sulfónico)

La técnica mejorada para la generación del radical catión ABTS<sup>•+</sup>, implica la producción directa del cromóforo ABTS<sup>•+</sup> verde-azul a través de la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ). Este presenta tres máximos de absorción a las longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión ABTS<sup>•+</sup> está determinado en función de la concentración y el tiempo; así como del valor correspondiente usando el Trolox como estándar, bajo las mismas condiciones.<sup>12</sup>

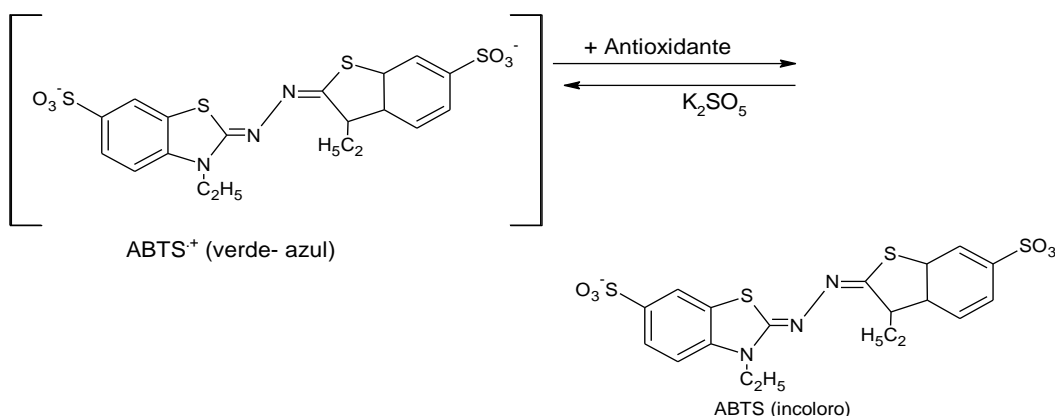


Figura 11. Estructura del ABTS<sup>•+</sup> antes y después de la reacción con el antioxidante.

Fuente: Parimelazhagan T. Pharmacological assays of plant-based natural products. 2015.

### 2.6.5.3 Ensayo FRAP (reducción de energía antioxidante férrica)

El ensayo FRAP fue desarrollado originalmente por Benzie y Strain, para medir el poder reductor en muestras de plasma, sin embargo, también se ha adaptado y utilizado para el ensayo de antioxidantes en productos botánicos. La reacción mide la reducción del complejo férrico-2,4,6,tripiridil-s-triazina (TPTZ), en la cual el hierro férrico ( $Fe^{3+}$  - TPTZ) se reduce a ión ferroso a bajo pH, causando la formación de un complejo ferroso-tripiridiltriiazina coloreado ( $Fe^{2+}$  - TPTZ), que absorbe a una longitud de onda de 593 nm.<sup>34</sup>

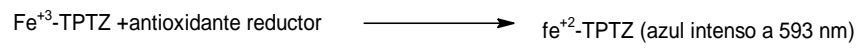
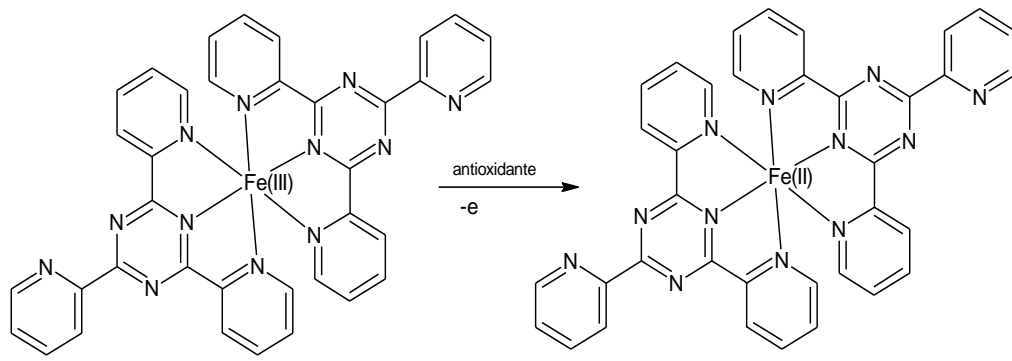


Figura 12. Mecanismo de reacción en el ensayo FRAP.

Fuente: Parimelazhagan T. Pharmacological assays of plant-based natural products. 2015.



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Farmacognosia, de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga durante los meses de mayo de 2017 a septiembre de 2017.

#### 3.2 Definición de población y muestra

##### a. Población

Hojas de tres especies del género *Senecio*: *Senecio adenophylloides* Sch. Bip, *Senecio graveolens* Weed y *Senecio collinus* DC.

##### b. Muestra

Un kilogramo de las hojas de las tres especies del género *Senecio*, cantidad de que se recolectó en horas de la mañana en el mes de marzo, realizando muestreo por conveniencia.

Las tres especies son:

- *Senecio collinus* DC, recolectadas en el centro poblado de San Felipe, distrito de Pilpichaca, provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica por Juana Paucar en marzo de 2017.
- *Senecio adenophylloides* Sch. Bip, recolectadas en el centro poblado de San Felipe, distrito de Pilpichaca, provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica por Hada Vargas en marzo de 2017.
- *Senecio graveolens* Weed, recolectadas en el centro poblado de Kimsacruz, distrito de Chuschi, provincia de Cangallo, departamento de Ayacucho. por Hada Vargas en marzo de 2017.

#### Unidad de análisis

Cinco gramos de muestra seca obtenida de las tres especies del género *Senecio*.

#### 3.3 Metodología y recolección de datos

##### 3.3.1 Recolección e identificación de la muestra vegetal

Las hojas de las especies *Senecio. adenophylloides* Sch. Bip., *Senecio graveolens*

Weed y *Senecio collinus* DC. fueron recolectadas, seleccionadas, lavadas y envueltas en papel kraft para su secado a temperatura ambiente por siete días en una habitación oscura, luego se procedió a triturarlo en una licuadora obteniéndose un polvo fino, y se guardó en un frasco de boca ancha color ámbar debidamente rotulado para ser conservado a temperatura ambiente.

La clasificación taxonómica de la planta (hojas, tallo, flor, raíz), fue realizada por la Blga. Laura Aucasime Medina, de acuerdo al Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist et al., 1981. (Anexo 1, 2,3).

### **3.3.2 Preparación de las muestras**

Cinco gramos secos de las hojas de las especies del género *Senecio* fueron sometidos a extracción con etanol al 80% en un equipo de Soxhlet. Se colocaron las muestras secas en un filtro de tela poroso, el filtro se colocó en el cartucho de extracción y en el balón el solvente (etanol al 80%). Se dejó trabajar el equipo Soxhlet hasta agotamiento, el extracto obtenido pasa por rotoevaporación (rotavapor BUCHI R300) recuperando parte del etanol 80% utilizado, luego las muestras concentradas fueron llevadas a una estufa Memmert a 40°C hasta sequedad, y finalmente envasado para su conservación y refrigeración hasta su posterior uso. (Ver anexo 5,6).

### **3.4 Identificación de fenoles y flavonoides**

Los extractos secos obtenidos anteriormente fueron disueltos con alcohol etílico 96° bidestilado en tubos de ensayos, para la identificación de fenoles y flavonoides con reactivo Cloruro férrico al 5% y ensayo de Shinoda, respectivamente. (Ver anexo 8,9).

### **3.5 Determinación del contenido de fenoles totales**

#### **a. Fundamento**

Se utilizó el método de Folin ciocalteu descrito por Makkar.<sup>35</sup>

El ensayo Folin ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 760 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en Ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdo túngstico (formado por las dos sales en el medio ácido) de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar

el contenido en polifenoles.<sup>12</sup>

#### **b. Procedimiento**

Se preparó una curva de calibración utilizando ácido gálico como patrón de cuantificación en un rango de concentración de 10-50 µg/mL (ver anexos 15,16).<sup>35</sup> Se tomaron alícuotas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1 mL de una mezcla formada por solución stock 50 µg/mL de ácido gálico y se completaron a 1 mL con agua bidestilada. Posteriormente se adicionó 0,5 mL de reactivo Folin ciocalteu (1:10 v/v), la mezcla se homogenizó y se incubó por 5 minutos en un ambiente oscuro. Luego se adicionó 2,5 mL de una disolución de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 5%, para luego homogenizar la mezcla y dejar reposar durante 40 minutos a temperatura ambiente, protegida de la luz. Finalmente, se procedió a medir la absorbancia a 760 nm de la mezcla anterior con un espectrofotómetro Genesys 6 UV.

A partir de los extractos que se obtuvieron de las hojas de las tres especies del género Senecio, se tomaron 50 µL de las muestras para utilizar el mismo procedimiento y condiciones descritos con anterioridad.

Las muestras fueron analizadas por triplicado y los resultados se expresaron como mg equivalente de ácido gálico por cada g de droga seca; los valores se presentan como la media de los análisis realizados por triplicado ± desviación estándar (DE).

### **3.6 Determinación del contenido de flavonoides totales**

#### **a. Fundamento**

Este método según Zhishen y col., se basa en la reacción de los grupos OH de los flavonoides y el aluminio (Al<sup>+3</sup>) formando un complejo rosado que se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm.<sup>35</sup>

#### **b. Procedimiento**

Se preparó una curva de calibración utilizando quercetina como patrón de cuantificación en un rango de concentración de 40 - 200 µg/mL (ver anexos 18,19).<sup>35</sup> Se tomaron alícuotas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1 mL de una mezcla formada por solución stock 200 µg/mL de quercetina y se completaron a 1 mL con agua bidestilada. Posteriormente se adicionaron 150 µL de reactivo nitrito de sodio al 5% (NaNO<sub>2</sub>), se homogenizó la mezcla y se dejó incubar por 5 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz y se agregó 150 µL de cloruro de aluminio 10% (AlCl<sub>3</sub>), para luego homogenizar la mezcla e incubarla durante 40 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz. Finalmente, se adicionó 2 mL hidróxido de sodio 4% (NaOH), se homogenizó y se completó con agua

bidestilada a 5 mL la mezcla se dejó en reposo durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se realizaron lecturas directas de absorbancia a 510 nm de la mezcla anterior con un espectrofotómetro UV-visible.

A partir de los extractos que se obtuvieron de las hojas de las tres especies del género *Senecio*, se tomaron 500 µL de las muestras para utilizar el mismo procedimiento y condiciones descritos con anterioridad.

Las muestras fueron analizadas por triplicado y los resultados se expresaron como mg equivalente de quercetina por cada g de droga seca; los valores se presentan como la media de los análisis realizados por triplicado  $\pm$  desviación estándar (DE).

### **3.7 Determinación de la actividad antioxidante *in vitro***

#### **3.7.1 Ensayo del DPPH según (Brand Willians y col,1995)**

##### **a. Fundamento**

Se basa en decoloración del radical DPPH por la presencia de antioxidantes. El radical DPPH es un compuesto sólido de color púrpura y presenta un electrón desapareado, cuando este radical libre se estabiliza frente a un antioxidante se decolora hasta quedar de color amarillo pálido. La disminución de la absorbancia a 517 nm es directamente proporcional a la capacidad antioxidante. La determinación de la actividad antioxidante de los diferentes extractos vegetales se llevó a cabo de acuerdo al método Brand - Willians y Col.<sup>35</sup>, con ligeras modificaciones descrita por Chilquillo y Col.<sup>36</sup>, cada ensayo se realizó por triplicado.

##### **b. Procedimiento:**

Se preparó en una fiola completamente cubierto con papel de aluminio la solución stock de DPPH 20 mg/L en etanol destilado para evitar su rápida degradación.<sup>15</sup> Posteriormente, se tomó un pequeño volumen de solución anterior y se diluyó con etanol destilado hasta alcanzar una absorbancia  $0,5 \pm 0,02$  a 517nm. Se preparó una curva de calibración utilizando Trolox como patrón de cuantificación en un rango de concentraciones de 1,251 – 10.012 µg/mL. (Ver anexos 21,22).

Luego, se procedió a adicionar en un tubo de ensayo 1.5 mL de la disolución de DPPH y se adicionó 0.75 mL de solución patrón Trolox. Inmediatamente, la mezcla se homogenizó y se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz. Finalmente, se procedió a medir la absorbancia de las muestras a 517 nm en un espectrofotómetro UV-visible. Esta medición se realizó contra un blanco, en el cual se sustituyó el volumen de DPPH por etanol destilado. También, se preparó un control con 1.5 mL de la disolución de DPPH y 0.75 mL de etanol destilado. El



blanco utilizado para el control fue solo etanol.

Para realizar el análisis de las muestras, se procedió a reconstituir cada extracto con etanol destilado a una concentración de 10 mg/mL. Luego, se preparó una batería de concentraciones de 5, 10, 50 µg/mL (Anexo 27). Posteriormente, cada concentración fue sometida al mismo tratamiento que los compuestos de referencia. Los ensayos fueron realizados por triplicado.

### c. Cálculo del porcentaje de actividad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante se expresó como porcentaje y se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula:<sup>33</sup>

$$\% AA = 100 - \left[ \frac{(A \text{ muestra} - A \text{ blanco}) \times 100}{A \text{ control}} \right]$$

%AA: porcentaje de actividad antioxidante

A muestra: absorbancia de las muestras

A control: absorbancia del control

A blanco: absorbancia del blanco de las muestras

Una vez que se determine el valor de porcentaje de actividad antioxidante de cada una de las concentraciones, se procedió a realizar una regresión lineal con dichos valores, de tal manera que se obtuvo la siguiente ecuación:  $y = mx + b$ , para calcular el  $CI_{50}$  se debe reemplazar el valor correspondiente al 50% de inhibición del DPPH en el eje "Y" y en el eje "X" la concentración del antioxidante necesaria para inhibir en un 50% el DPPH<sup>2</sup>, y posteriormente se determinó la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC).<sup>37</sup>

$$TEAC = \frac{IC50 \text{ DEL Trolox } (\mu\text{mol/mL})}{IC50 \text{ de la muestra (g/mL)}}$$

## 3.8 Ensayo de captación del radical ABTS<sup>•+</sup> según (Re y col.,1999)

### a. Fundamento

El radical catiónico ABTS<sup>•+</sup> es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 732 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) con persulfato de potasio, las mediciones se realizó a una longitud de onda de 732 nm.

La determinación de la actividad antioxidante de los diferentes extractos vegetales se llevó a cabo de acuerdo al método de captación del radical ABTS<sup>•+</sup> establecida por Re y col., cada ensayo se realizó por triplicado.<sup>35</sup>

### b. Procedimiento

Se prepararon varias soluciones antes de empezar con el protocolo:

- Solución ABTS 7 mM: se pesó 0,0776 g del reactivo ABTS y se disolvió en un matraz de 10 mL con agua bidestilada.
- Solución K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 2,45 mM: se pesó 0,0132 g K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> y se disolvió en un matraz de 10 mL con agua bidestilada.<sup>2</sup>

Se realizó el ensayo ABTS<sup>•+</sup>, para lo cual se preparó una mezcla compuesta por ABTS 7,0 mM y persulfato de potasio 2,45 mM) disueltos en 20 mL de agua bidestilada, la cual se dejó reposar a temperatura ambiente (± 25°C) durante 14-16 horas en condiciones de oscuridad. Posteriormente, se tomó un pequeño volumen de la solución anterior ABTS<sup>•+</sup> y se diluyó con etanol destilado hasta alcanzar una absorbancia inicial de 0,70 ± 0,02 a 732 nm. Se preparó una curva de calibración utilizando Trolox como patrón de cuantificación en un rango de concentración de 5,006 – 25,029 µg/mL. (Ver anexos 23,24).

Luego de formar el radical catión ABTS<sup>•+</sup>, se tomaron 1900 µL del reactivo catión radical ABTS<sup>•+</sup> y se adicionaron 100 µL de las soluciones patrón de Trolox. La mezcla se dejó reposar durante 7 minutos a una temperatura ambiente. Se realizaron lecturas directas de absorbancia a las mezclas a 732 nm con un espectrofotómetro UV-visible, los ensayos se realizaron por triplicado.

Para realizar el análisis de las muestras, se procedió a reconstituir cada extracto con etanol destilado a una concentración de 10 mg/mL. Luego, se preparó una batería de concentraciones de 5, 50, 100 µg/mL (Anexo 28). Posteriormente, cada concentración fue sometida al mismo tratamiento y condiciones que los compuestos de referencia. Los ensayos fueron realizados por triplicado.

### c. Cálculo del porcentaje de actividad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante se expresó como porcentaje y se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula:<sup>33</sup>

$$\% AA = 100 - \left[ \frac{(A \text{ muestra} - A \text{ blanco}) \times 100}{A \text{ control}} \right]$$

%AA: porcentaje de actividad antioxidante

A muestra: absorbancia de las muestras

A control: absorbancia del control

A blanco: absorbancia del blanco de las muestras

Una vez que se determine el valor de porcentaje de actividad antioxidante de cada una de las concentraciones, se procedió a realizar una regresión lineal con dichos valores, de tal manera que se obtuvo la siguiente ecuación:  $y = mx + b$ , para calcular el CI<sub>50</sub> se debe reemplazar el valor correspondiente al 50% de inhibición

del ABTS en el eje “Y” y en el eje “X” la concentración del antioxidante necesaria para inhibir en un 50% el ABTS<sup>2</sup>, y posteriormente se determinó la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC).<sup>37</sup>

$$TEAC = \frac{IC50 \text{ DEL Trolox } (\mu\text{mol/mL})}{IC50 \text{ de la muestra } (\text{g/mL})}$$

### 3.9 Ensayo de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

#### a. Fundamento

El mecanismo del FRAP es de transferencia de electrones, a diferencia de otros métodos donde se produce captura de radicales libres. Se llevó a cabo según el método de Benzie y Strain<sup>35</sup> y adaptado por Szollosi y Varga<sup>38</sup>. Este método se basa en la reducción del complejo férrico-2,4,6,tripiridil-s-triazina (TPTZ), en la cual el hierro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) se reduce a ión ferroso a bajo pH, causando la formación de un complejo ferroso-tripiridiltriiazina coloreado ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) por acción de los compuestos antioxidantes, dando un color azul que absorbe a 593 nm, cuya intensidad está en relación directa con la capacidad reductora de la muestra analizada.<sup>34</sup>

#### b. Procedimiento

Se prepararon varias soluciones antes de empezar con el protocolo:

- Se preparó el buffer ácido acético acetato de sodio 0,3 mM (pH 3.6)
- Solución de ácido clorhídrico (HCl) 40 mM: se diluyó 535  $\mu\text{L}$  de HCl (37%) en 100 mL de agua bidestilada.
- Solución TPTZ 10 mM: se pesó 0,0312 g del reactivo TPTZ y disolvió en un matraz de 10 mL con HCl 40 mM.
- Solución  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM: se disolvió 0,1352 g de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en 25 mL de agua bidestilada.<sup>2</sup>

Para el ensayo FRAP se preparó un buffer acetato de sodio 0,3 mM pH 3.6; TPTZ en concentración de 10 mM disuelto en una solución de HCl 40 mM y  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM. El complejo férrico fue preparado mezclando las siguientes cantidades: 25 mL de buffer acetato de sodio; 2,5 mL de solución TPTZ y 2,5 mL de solución  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , esta solución de trabajo se deberá preparar diariamente.

Se preparó una curva de calibración utilizando Trolox como patrón de cuantificación en un rango de concentración de 5,006 – 25,029  $\mu\text{g/mL}$ . (Ver anexos 25,26).

Finalmente se colocó en un tubo de ensayo 1 mL del reactivo FRAP con 0.050 mL de solución patrón Trolox y se agregó 0.950 mL de agua bidestilada. Luego se

agitó y se llevó a baño maría a 37°C durante 30 minutos. Se realizaron lecturas directas de absorbancia a las mezclas a 593 nm con un espectrofotómetro UV-visible después de 4 minutos, los ensayos se realizaron por triplicado.<sup>36</sup>

Para realizar el análisis de las muestras, se procedió a reconstituir cada extracto con etanol destilado a una concentración de 10 mg/mL. Luego, se preparó una batería de concentraciones de 0,5; 1 y 5 µg/mL (Anexo 29). Posteriormente, cada concentración fue sometida al mismo tratamiento y condiciones que los compuestos de referencia. Los ensayos fueron realizados por triplicado.

### c. Cálculo del porcentaje de actividad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante se expresó como porcentaje y se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula:<sup>33</sup>

$$\% AA = 100 - \left[ \frac{(A \text{ muestra} - A \text{ blanco}) \times 100}{A \text{ control}} \right]$$

%AA: porcentaje de actividad antioxidante

A muestra: absorbancia de las muestras

A control: absorbancia del control

A blanco: absorbancia del blanco de las muestras

Una vez que se determine el valor de porcentaje de actividad antioxidante de cada una de las concentraciones, se procedió a realizar una regresión lineal con dichos valores, de tal manera que se obtuvo la siguiente ecuación:  $y = mx + b$ , para calcular el  $IC_{50}$  se debe reemplazar el valor correspondiente al 50% de inhibición del poder reductor del FRAC en el eje "Y" y en el eje "X" la concentración del antioxidante necesaria para inhibir en un 50% el FRAP<sup>2</sup>, y posteriormente se determinó la Actividad Equivalente de Trolox (TEAC).<sup>37</sup>

$$TEAC = \frac{IC_{50} \text{ DEL Trolox } (\mu\text{mol/mL})}{IC_{50} \text{ de la muestra } (\text{g/mL})}$$

### a. Análisis de datos

Los datos que se obtuvieron de la evaluación de los estudiados fueron procesados en una base de datos con el paquete estadístico SPSS 23. Se determinaron en forma de medias y desviación estándar, y se representaron mediante barras de error. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia al 95% en sus medidas y varianzas, así mismo se hizo la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para ver similitudes o diferencias entre las medias de los grupos con un nivel de significancia al 95%.

#### **IV. RESULTADO**



Tabla 2. Presencia de compuestos fenólicos en las hojas de las tres especies del género senecio

Ensayo	Especies			Observaciones
	<i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip	<i>S. graveolens</i> Weed	<i>S. collinus</i> DC.	
Reacción de Cloruro férrico (FeCl <sub>3</sub> )	+++	+++	+++	Coloración verde oscuro intenso
Reacción de Shinoda	++	+	++	Coloración naranja a rojo ladrillo

LEYENDA:

- (-) : Ausencia
- (+) : Trazas
- (++) : Positivo
- (+++): Abundante

Tabla 3: Contenido de fenoles totales y flavonoides totales en las hojas de las tres especies del género *Senecio*.

Muestra	Contenido de fenoles totales <sup>A</sup> ± D.E	Contenido de flavonoides totales <sup>B</sup> ± D.E
<i>Senecio adenophylloides</i> Sch. Bip.	63,07 ± 0,25 <sup>a</sup>	64,15 ± 1,99 <sup>a</sup>
<i>Senecio graveolens</i> Weed	40,55 ± 1,01 <sup>b</sup>	27,42 ± 1,55 <sup>b</sup>
<i>Senecio collinus</i> DC.	30,47 ± 0,45 <sup>c</sup>	26,20 ± 0,34 <sup>b</sup>
D.E: desviación estándar		

<sup>A</sup>mg de ácido gálico/ g de muestra (mg de EAG/g de muestra seca).

<sup>B</sup>mg de quercetina/ g de muestra (mg de EQ/g de muestra seca).

Los valores representan la media de tres repeticiones ± la desviación estándar.

Distintas letras simbolizan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Los datos representan el promedio ± DE de al menos,  $n=3$ .



**Tabla 4:** Actividad antioxidante de las tres especies del género Senecio.

Muestra	Concentración (µg/mL)	% AA DPPH ± D.E	Concentración (µg/mL)	% AA ABTS ± D.E	Concentración (µg/mL)	% poder reductor del Hierro (FRAP) ± D.E
<i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip.	5	37,32 ± 0,89 <sup>h</sup>	5	25,90 ± 0,31 <sup>e</sup>	0,5	9,31 ± 0,91 <sup>i</sup>
	10	42,11 ± 0,78 <sup>g</sup>	50	75,23 ± 0,12 <sup>j</sup>	1	32,79 ± 0,84 <sup>g</sup>
	50	61,94 ± 0,57 <sup>j</sup>	100	98,54 ± 0,14 <sup>f</sup>	5	45,75 ± 0,63 <sup>f</sup>
<i>S. graveolens</i> Weed	5	35,52 ± 0,39 <sup>h</sup>	5	16,16 ± 0,26 <sup>h</sup>	0,5	5,49 ± 0,37 <sup>h</sup>
	10	40,72 ± 0,43 <sup>g</sup>	50	57,54 ± 0,28 <sup>i</sup>	1	19,47 ± 0,70 <sup>g</sup>
	50	57,15 ± 0,17 <sup>i</sup>	100	95,19 ± 0,28 <sup>f</sup>	5	30,47 ± 0,23 <sup>e</sup>
<i>S. collinus</i> DC.	5	39,37 ± 1,46 <sup>h</sup>	5	11,80 ± 0,07 <sup>h</sup>	0,5	5,44 ± 0,73 <sup>h</sup>
	10	43,47 ± 0,34 <sup>g</sup>	50	46,73 ± 0,65 <sup>g</sup>	1	24,61 ± 0,19 <sup>g</sup>
	50	53,0 ± 0,33 <sup>f</sup>	100	89,26 ± 0,34 <sup>f</sup>	5	48,34 ± 0,73 <sup>f</sup>
Trolox	1,25	36,45 ± 0,55 <sup>e</sup>	5,06	29,28 ± 2,26 <sup>e</sup>	5,06	23,50 ± 2,82 <sup>e</sup>
	2,50	44,58 ± 0,12 <sup>d</sup>	10,01	42,28 ± 5,12 <sup>d</sup>	10,01	39,55 ± 6,21 <sup>d</sup>
	5,00	59,58 ± 4,13 <sup>c</sup>	15,01	58,71 ± 5,12 <sup>c</sup>	15,01	64,92 ± 8,07 <sup>c</sup>
	7,50	75,83 ± 0,36 <sup>b</sup>	20,02	74,28 ± 0,86 <sup>b</sup>	20,02	77,61 ± 9,02 <sup>b</sup>
	10,0	96,04 ± 0,20 <sup>a</sup>	25,02	89,42 ± 0,00 <sup>a</sup>	25,02	94,02 ± 8,90 <sup>a</sup>

D.E: desviación estándar

Distintas letras simbolizan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Los datos representan el promedio ± DE de al menos,  $n=3$ .

**Tabla 5.** Concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) de las hojas de las tres especies del género *Senecio*. Ayacucho 2017.

Muestra	DPPH CI <sub>50</sub> (µg/mL)	ABTS CI <sub>50</sub> (µg/mL)	FRAP CI <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Senecio adenophylloides</i> Sch. Bip.	27,22 ± 0,15 <sup>b</sup>	29,85 ± 0,12 <sup>d</sup>	5,49 ± 0,04 <sup>d</sup>
<i>Senecio graveolens</i> Weed	33,86 ± 0,16 <sup>b</sup>	44,08 ± 0,02 <sup>c</sup>	7,85 ± 0,03 <sup>c</sup>
<i>Senecio collinus</i> DC.	38,11 ± 0,84 <sup>b</sup>	52,56 ± 0,03 <sup>b</sup>	6,23 ± 0,07 <sup>b</sup>
Trolox	3,39 ± 0,12 <sup>a</sup>	12,12 ± 0,87 <sup>a</sup>	1,09 ± 0,03 <sup>a</sup>
D.E: ± desviación estándar			

Los valores representan la media de tres repeticiones ± la desviación estándar de al menos, n=3. Distintas letras simbolizan diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).

**Tabla 6.** Capacidad antioxidante equivalentes de Trolox de las hojas de las tres especies del género *Senecio* a diferentes concentraciones. Ayacucho 2017.

Muestra	DPPH TEAC <sup>a</sup> (μmol/g)	ABTS TEAC <sup>a</sup> (μmol/g)	FRAP TEAC <sup>a</sup> (μmol/g)
<i>Senecio adenophylloides</i> Sch. Bip	498,07 ± 2,99	1608,32 ± 6,48	789,02 ± 6,30
<i>Senecio graveolens</i> Weed	398,76 ± 1,91	1089,05 ± 0,52	549,23 ± 1,94
<i>Senecio collinus</i> DC.	355,70 ± 9,7	913,24 ± 0,41	694,91 ± 0,78

<sup>a</sup> Capacidad antioxidante equivalentes de Trolox, Los valores representan la media de tres repeticiones ± la desviación estándar.



## V. DISCUSIÓN

En la tabla 2, se muestran los resultados del ensayo para flavonoides y fenoles para *Senecio adenophylloides* Sch. Bip., *Senecio graveolens* Weed y *Senecio collinus* DC., en donde muestra que el *S. adenophylloides* Sch. Bip. tiene mayor contenido de flavonoides y fenoles. Lock de Ugaz<sup>21</sup> señala que una coloración rosa indica la presencia de flavonas y flavonoles, también señala que una coloración verde negro indica la presencia de compuestos fenólicos.

No existen reportes de la presencia de flavonoides y fenoles totales en las especies *Senecio adenophylloides* Sch. Bip. y *Senecio collinus* DC. Pero si existe reporte en otras especies del género *Senecio*. Soriano y col.<sup>39</sup>, realizaron el estudio de flavonoides en *Senecio culcitoides* utilizando técnicas cromatográficas y espectroscópicas en UV-visible, reportando flavonoides de núcleo flavanona (5,7-dihidroxi-4',6',8-trimetoxiflavanonona; 3',5'-dihidroxi-4-metoxi-7-O-mannoglucosil-flavanona) y una chalcona (5,4- dihidroxi-chalcona). Yang y col.<sup>40</sup>, en una investigación sobre los compuestos químicos y las propiedades farmacológicas en más de 1500 plantas del género *Senecio*, reportan en las partes aéreas de *Senecio argunensis* la presencia de quercetina, isorhamnetina, kaempferol y sus derivados glicosilados, en las hojas de *Senecio cineraria* la presencia de dihidroquercetina, apigenina, luteolina y quercetina, en las partes aéreas de *Senecio visosissimus* la presencia de kumatacenina, isokampferide, paquipodol y metil – isorhamnetina, en *Senecio pseudotites* derivados glicosilados de una chalcona la okanina y en las hojas de *Senecio mikanooides* la presencia de las xantonas mangiferina, tripterosido y la muraxantona. Chiquillo y Cervantes<sup>36</sup>, también reportan la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos en el extracto de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. “vira – vira”. Azzahra y col.<sup>41</sup> reportan la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y proantocianidinas en *Senecio anteuphorbium*. Asimismo, Albayrak y col.<sup>8</sup>, también Reportan la presencia de compuestos fenólicos en *Senecio fluviatilis*, *Senecio nemorensis*, *Senecio pseudos – orientalis* y en *Senecio racemosus*. Apumayta

J.<sup>42</sup>, reportó la presencia de taninos y saponinas en mayor proporción; así mismo, destaca la presencia de azúcares reductores, flavonoides y glicósidos en menores proporciones.

En la Tabla 3, se observan los resultados de la cuantificación del contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Se realizó la curva de calibración del ácido gálico, con un coeficiente de correlación de 0,9995 (anexo totales 16); la cual permitió determinar el contenido de fenoles totales de las tres especies del género *Senecio*, el *S. adenophylloides* Sch. Bip. es la que mayor contenido de fenoles totales posee ( $60,07 \pm 0,25$  mg EGA /g droga seca), seguido *S. graveolens* Weed ( $40,55 \pm 1,01$  mg EGA/g droga seca) y *S. collinus* DC. ( $30,047 \pm 0,45$  mg EGA /g droga seca) respectivamente. El análisis estadístico demuestra que hay diferencias estadísticas ( $p < 0,05$ ) en el contenido de fenoles totales de las tres especies del género *Senecio*. (Ver anexo 30).

Albayrak. y col.<sup>8</sup>, reportaron el contenido de fenoles de cuatro especies del género *Senecio* recolectados en Turquía: *S. racemosus* ( $139,43 \pm 1,5$  mg GAE/g extracto), *S. nemorensis* ( $136,05 \pm 4,6$  mg GAE/g extracto), *S. fluviatilis* ( $60,65 \pm 1,5$  mg GAE/g extracto), y *S. pseudo orientalis* ( $32,25 \pm 0,0$  mg GAE/g extracto) respectivamente, reportando que la especie *S. racemosus*, es la que contiene mayor cantidad de fenoles totales que las demás especies de *Senecio*. González y col.<sup>43</sup>, reportaron el contenido de fenoles totales del *S. patagonicus* de dos ciudades de Patagonia chilena, el del Parque Nacional Pali Aike (PANP) mostró valores más altos que las plantas del jardín botánico Carl Skottsberg (CSBG). Azzahra y col.<sup>41</sup>, también reportaron el contenido total de fenoles de *S. anteuphorbium* por extracción metanólica obtenida por extracción soxhlet ( $21,53 \pm 1,03$  mg GAE/g extracto); maceración con metanol ( $6,92 \pm 0,26$  mg GAE/g extracto); decocción ( $14,56 \pm 0,95$  mg GAE/g extracto) y por maceración acuosa ( $2,46 \pm 0,11$  mg GAE/g extracto), obteniendo valores altos de contenido de fenoles totales por extracción soxhlet.

En nuestro estudio, observamos que el contenido de fenoles totales están influenciados o sufre alguna variación por la técnica de extracción, uso de solvente, tiempo de sonicación, cantidad de reactivo y muestra utilizado, tiempo de incubación, estrés abiótico, etc. aplicado en las diferentes determinaciones del contenido de fenoles totales, por estas posibles influencias reportamos bajo contenido de fenoles totales. Khang y col.<sup>44</sup>, señalan que los compuestos fenólicos totales se producen naturalmente durante el crecimiento y desarrollo de las

plantas para proteger ellos mismos de tensiones bióticas como enfermedades, insectos y estrés ambiental.

En la Tabla 3, se observan los resultados de la cuantificación del contenido de flavonoides totales de las tres especies del género *Senecio* fueron: *S. adenophylloides* Sch. Bip. ( $64,14 \pm 1,99$  mg de QE/g droga seca), *S. graveolens* Weed. ( $27,422 \pm 1,55$  mg de QE/g droga seca) y *S. collinus* DC. ( $26,20 \pm 0,34$  mg de QE/g droga seca) respectivamente. Se realizó la curva de calibración de quercetina, con un coeficiente de correlación de 0,9964 (anexo 19); la cual permitió determinar el contenido de flavonoides totales. La especie *S. adenophylloides* Sch. Bip. mostró mayor de contenido de flavonoides totales y *S. collinus* DC. fue la que mostró menor contenido de flavonoides totales. La cantidad de flavonoides totales (mgQE/g) es estadísticamente similar corroborado por las pruebas estadísticas correspondientes ( $p > 0,05$ ) entre *S. graveolens* Weed y *S. collinus* DC. (Anexo 30).

Existen estudios de cuantificación de flavonoides de *S. nutans* Sch. Bip. Sinónimo *S. graveolens* Weed (chachacoma), donde Parra y col.<sup>45</sup> reportaron que el contenido de flavonoides en el extracto forma alrededor del 72% de su contenido total. Esta planta tenía un contenido de polifenoles totales más alto ( $20,58 \pm 0,59$  mg GAE / g droga seca) en comparación con otras plantas andinas mencionados por Chirinos y col.<sup>46</sup>, algunas de las especies nativas del Perú mencionados por Doroteo y col.<sup>47</sup> y el *S. graveolens* Weed (= *S. nutans* Sch. Bip.) estudiado.

Azzahra y col.<sup>41</sup>, también reportaron el contenido de flavonoides totales de *S. anteuphorbium* por cuatro tipos de extracción: metanólica obtenida por extracción soxhlet ( $26,59 \pm 0,24$  mg QE/g extracto); maceración con metanol ( $13,51 \pm 0,37$  mg QE/g extracto); decocción ( $13,51 \pm 0,55$  mg QE/g extracto) y por maceración acuosa ( $6,52 \pm 0,09$  mg QE/g extracto), reportaron que la extracción por soxhlet mostró mayor contenido de flavonoides totales. En nuestro estudio la especie *S. S. graveolens* Weed y *S. collinus* DC. mostraron casi una similitud en el contenido de flavonoides con el *S. anteuphorbium*, utilizando el mismo método de extracción soxhlet. Por ello determinamos que la extracción de flavonoides totales depende del tipo de extracción, metodología usada, tiempo de sonicación, tiempo de incubación, longitud de onda, cantidad de muestra y etc.

Tang y col.<sup>48</sup>, señalan que los flavonoides están involucrados en la protección contra el estrés (oxidativo y por temperatura), desarrollo temprano de la planta y protección contra insectos y los mamíferos herbívoro.

Shalaby y col.<sup>49</sup> menciona que el DPPH es un método simple, rápido y económico para estudiar los perfiles de capacidad antioxidante de extractos de plantas, alimentos, etc. Se puede usar para muestras sólidas o líquidas y no es específico de ningún componente antioxidante en particular.

En la Tabla 4, se observan los resultados de actividad antioxidante de las tres especies del género *Senecio* por el método de decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) expresados en porcentaje, observándose una relación directa entre la concentración y la capacidad antioxidante. Se realizó la curva de calibración con Trolox para el ensayo DPPH, con un coeficiente de correlación de 0,9959 (anexo 22); a partir de las cuales fue posible expresar la actividad antioxidante de las tres especies de *Senecio*. En nuestro estudio, se trabajó a concentraciones de 5, 10 y 50 µg/mL obteniendo los siguientes datos 37,32%, 42,11% y 61,94% (*S. adenophylloides* Sch. Bip.); 35,52%, 40,72% y 57,15% (*S. graveolens* Weed) 39,37, 43,47% y 53% (*S. collinus* DC.) respectivamente. En nuestra estudio la especie *S. adenophylloides* Sch. Bip. mostró mayor actividad antioxidante debido a que presentaron mayor cantidad de fenoles y flavonoides, las cuales son responsables del secuestro del radical libre DPPH. El análisis estadístico demostró que existen diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre las tres especies (ver anexo 29). No existe referencia alguna de porcentaje de actividad antioxidante de las tres especies que estamos estudiando con el ensayo DPPH, se reporta estudio de otras especies del género *Senecio* de diferentes partes del mundo.

En la tabla 5, se determinan el  $CI_{50}$  donde a menor concentración inhibitoria 50 ( $CI_{50}$ ) mayor capacidad antioxidante<sup>2</sup>, los resultados obtenidos:  $CI_{50}$  para *S. adenophylloides* Sch. Bip. es  $27,22 \pm 0,15$  µg/mL, *S. graveolens* Weed es  $33,86 \pm 0,16$  µg/mL y *S. collinus* DC. es  $38,11 \pm 0,84$  µg/mL, se consideran el *S. adenophylloides* Sch. Bip como especie con alto potencial antioxidante.

Albayrak y col.<sup>8</sup>, reportaron que las cuatro especies del género *Senecio* estudiados: *S. nemorensis*, *S. racemosus*, *S. fluviatilis*, *S. pseudo-orientalis*, muestra un potente actividad antioxidante con un  $CI_{50}$  entre 25,40 y 70,80 µg/mL usando la metodología del DPPH. En nuestro estudio resultados nos indican que el *S. adenophylloides* Sch. Bip. posee un  $CI_{50}$  de 27,22 µg/mL, *S. graveolens* Weed posee  $CI_{50}$  de 33,97 µg/mL y *S. collinus* DC. un  $CI_{50}$  de 38,70 µg/mL, las cuales se encuentran dentro de este rango pudiendo considerarse también como especies con alto potencial antioxidante. Chilquillo y Cervantes<sup>37</sup>, reportaron que el *Senecio*



*canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. "vira-vira" presentó un valor de IC<sub>50</sub> de 62,95 µg/ mL, indicando que un valor bajo del CI<sub>50</sub> significa una mayor actividad antioxidante. A partir de los resultados mostrados de las tres especies del género *Senecio* se concluye que el *S. adenophylloides* Sch. Bip posee una mejor y potente actividad antioxidante. (Ver tabla 5). Singh y col.<sup>50</sup>, También reportaron el CI<sub>50</sub> del aceite esencial de *S. Amplexicaulis* Kunth a concentraciones de 20-100 ug/mL, el 50% de inhibición del DPPH fue 81,61 ug/mL a 100 ug/mL y su porcentaje de capacidad antioxidante fue 59%, en la tabla 4 observamos que el *S. adenophylloides* Sch. Bip. a una concentración de 50 ug/mL obtuvo un porcentaje de capacidad antioxidante de 61,945%.

Asimismo en la tabla 6, se observan los valores de actividad equivalente de Trolox (TEAC) las cuales fueron: *S. adenophylloides* Sch. Bip. (498,07 ± 2,99 µmol/g muestra seca); *S. graveolens* Weed (398,7 ± 1,91 µmol/g muestra seca) y *S. collinus* DC (355,70 ± 9,7 µmol/g muestra seca) respectivamente.

Se recomienda que se debe realizar al menos dos métodos diferentes para la determinación de la actividad antioxidante de muestras vegetales, por ello se realizó el ensayo de ABTS y FRAP.

Shalaby y col.<sup>49</sup> menciona que el ABTS ha sido utilizado para examinar la capacidad relativa de captación de radicales de flavonoides y fenoles. El ABTS es soluble en disolventes acuosos y orgánicos y es una mejor opción que DPPH y más sensible que DPPH. Desventaja el precio del reactivo ABTS es alto.

En la Tabla 4, se observan los resultados de la actividad antioxidante de las tres especies del géneros *Senecio* por el método de decoloración del radical ácido 2,2',azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS). Se realizó la curva de calibración con Trolox para el ensayo ABTS, con un coeficiente de correlación de 0,999 (anexo 24); a partir de las cuales fue posible expresar la actividad antioxidante de las tres especies del género *Senecio*, son expresados en porcentaje, observándose una relación directa entre la concentración y la capacidad antioxidante. Se trabajó a concentraciones de 5, 50 y 100 µg/mL obteniendo los siguientes datos 25,90%, 75,23% y 98,54% (*S. adenophylloides*Sch. Bip); 16,16%, 57,54% y 95,19% (*S. graveolens* Weed) 11,80%, 46,73% y 89,26% (*S. collinus* DC) respectivamente, las cuales son estadísticamente diferente (p<0,05) entre especies. (Ver anexo 30).

Singh y col.<sup>50</sup>, estudiaron el aceite esencial *S. Amplexicaulis* Kunth, el cual a 100 µg/mL posee 44, 8% de capacidad antioxidante, el cual nos indica que las tres

especies del género *Senecio* estudiados a esta misma concentración tienen un alto poder de capacidad antioxidante teniendo a *S. adenophylloides* Sch. Bip. (98,55%) y *S. collinus* DC (89,26%) Ver cuadro 4.

González y col.<sup>43</sup>, determinaron la actividad antioxidante por el ensayo ABTS del *Senecio patagonicus* Hook. & Arn., en sitios seleccionados mencionado anteriormente, la capacidad antioxidante del *S. patagonicus* fue (34.08 ± 4.56%) especie del PANP. La capacidad antioxidante de la muestra de PANP fue casi 8 veces más alto que la muestra del CSBG (4.01 ± 3.88%).

En nuestro estudio la especie *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed y *S. collinus* DC. poseen alto contenido de capacidad antioxidante realizado mediante el ensayo ABTS.

En la Tabla 5, se determinan el IC<sub>50</sub> donde a menor concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) mayor capacidad antioxidante<sup>2</sup>, los resultados obtenidos: CI<sub>50</sub> para *S. adenophylloides* Sch. Bip. (29,85±0,12 µg/mL), *S. graveolens* Weed (44,08±0,02 µg/mL) y *S. collinus* DC. (52,56±0,03 µg/mL) respectivamente, se consideran el *S. adenophylloides* Sch. Bip como especie con alto potencial antioxidante.

Asimismo la Tabla 6, se observan los valores de actividad equivalente de Trolox (TEAC) las cuales fueron: *S. adenophylloides* Sch. Bip (1608,32 ± 6,48 µmol/g); *S. graveolens* Weed (1089,05 ± 0,52 µmol/g) y *S. collinus* DC (913,24 ± 0,41 µmol/g) respetivamente. Parra y col. <sup>45</sup>reportaron los valores TE, en extracto obtenido por maceración de *S. nutans* Sch. Bip. con etanol absoluto durante 72 horas a temperatura ambiente utilizando el ensayo ABTS<sup>++</sup> obteniendo 13,01 ± 0,08 µmol TE/g droga seca y no existe más reportes de estas especies.

Mesa y col.<sup>10</sup> reportaron los valores TEAC en el ensayo ABTS<sup>++</sup> del *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae), utilizando diferentes tipos de solvente (etanol, diclorometano, metanol, hexano, acetato de etilo y su aceite esencial), los extractos de metanol (31339,38 ± 2957,52 µmol/g extracto) y diclorometano (28364,20 ± 858,21 µmol/g extracto) poseen alto valor TEAC, seguido del extracto con etanol (27711,40 ± 1717,66 µmol/g extracto). En nuestro estudio, observamos que el *S. adenophylloides* Sch. Bip. Posee un valor alto entre las tres especies del género *Senecio* Estos resultados elevados indican que actúan mediante la donación de electrones, por lo que podrían también reaccionar con los radicales libres, convirtiéndolos en productos más estables y detener las reacciones en cadena generada por radicales libres.<sup>13</sup>

Shalaby y col.<sup>49</sup> menciona que el ensayo FRAP es simple, rápido, económico y no

requiere equipo especializado. Desventaja el reactivo FRAP no puede detectar especies que actúen mediante transferencia de H, antioxidantes del grupo sulfhidrilo que contiene tioles como el glutatión y las proteínas.

En la Tabla 4, se observan el resultado del ensayo FRAP el cual está basado en la habilidad de los compuestos fenólicos para reducir  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  En presencia de 2,4,6-tripiridil-s-triazina, la reducción se encuentra acompañada de la formación de un complejo coloreado de  $Fe^{2+}$ . Se realizó la curva de calibración con Trolox para el ensayo FRAP, con un coeficiente de correlación de 0,9893 (anexo 26); a partir de las cuales fue posible expresar el poder reductor del hierro de las tres especies del género *Senecio*.

Se trabajó a concentraciones de 0,5, 1 y 5  $\mu\text{g/mL}$  obteniendo los siguientes datos: 9,32%, 32,79%, 45,76% (*S. adenophylloides* Sch. Bip.); 5,49%, 19,47% y 30,47% (*S. graveolens* Weed) y 5,44%, 24,61% y 48,34% (*S. collinus* DC.) respectivamente. El análisis estadístico demostró que existen diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre las tres especies del género *Senecio*, (Anexo 31).

En la Tabla 5, se determinan el  $CI_{50}$  donde a menor concentración inhibitoria 50 ( $CI_{50}$ ) mayor capacidad antioxidante<sup>2</sup>, los resultados obtenidos fueron:  $CI_{50}$  para *S. adenophylloides* Sch. Bip. ( $5,49 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ ), *S. graveolens* Weed ( $7,85 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ ) y *S. collinus* DC. ( $6,23 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$ ) respectivamente, se consideran al *Senecio adenophylloides* Sch. Bip. especie con alto potencial antioxidante. Herrera O.<sup>33</sup>, reportó el  $CI_{50}$  del extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata* Cav. ( $0,41 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$ ) inferior al  $CI_{50}$  del Trolox ( $0,75 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ ). similar al cómo se reporta en este trabajo donde el  $CI_{50}$  del Trolox es mayor que las de las tres extractos de las especies del género *Senecio*.

Asimismo en la Tabla 6, se observan los valores de actividad equivalente de Trolox (TEAC) las cuales fueron: *S. adenophylloides* Sch. Bip. ( $789,02 \pm 6,30 \mu\text{mol/g}$  muestra seca); *S. graveolens* Weed ( $549,23 \pm 1,94 \mu\text{mol/g}$  muestra seca) y *S. collinus* DC ( $694,91 \pm 0,78 \mu\text{mol/g}$  muestra seca). La literatura para evaluar capacidad antioxidante con el ensayo FRAP de extractos para el género *Senecio* es escaso. Parra y col.<sup>45</sup> reportaron los valores TE, en extracto obtenido por maceración de *S. nutans* Sch. Bip. con etanol absoluto durante 72 horas a temperatura ambiente utilizando el ensayo FRAP obteniendo así  $27,65 \pm 0,06 \mu\text{mol TE/g}$  droga seca, ligeramente menor en comparación con los resultados en esta investigación.

Desde el punto de vista de Bustamante K., menciona que existe diversos métodos

para evaluar la capacidad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*. Los más usados son el FRAP, basados en la capacidad de reducción férrica y los de ABTS, DPPH y ORAC, basados en la captación de distintos radicales libres; estas técnicas son utilizadas para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para captar los radicales libres generados, actuando así en contra de los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación.<sup>51</sup>

En su trabajo de investigación Almudena V., clasificó el estrés en plantas en bióticos (animales, microorganismos, etc.) y estrés abióticos (déficit de agua o exceso, temperatura, salinidad y radiación UV.<sup>52</sup> el contenido de compuestos fenólicos, pigmentos fotosintéticos, carotenoides y fenilpropanoides. participan en la protección de la planta contra la radiación UV-B.<sup>43</sup>

## VI. CONCLUSIONES

- a) La capacidad antioxidante de las hojas del género Senecio fue mayor en *S. adenophylloides* Sch. Bip. seguida de *S. graveolens* Weed y *S. collinus* DC. la cual posee poca capacidad antioxidante frente a radicales libres (DPPH, ABTS) y una elevada capacidad reductora de Hierro (FRAP).
- b) Las hojas de las tres especies del género Senecio presentan compuestos fenólicos y flavonoides, las cuales se evidenciaron con el reactivo de Cloruro férrico al 5% y ensayo de Shinoda respectivamente.
- c) La actividad antioxidante frente al radical DPPH tuvo un  $CI_{50}$  de  $27,11 \pm 0,15$   $\mu\text{g/ml}$  (*S. adenophylloides* Sch. Bip.)  $33,86 \pm 0,16$   $\mu\text{g/mL}$  (*S. graveolens* Weed) y  $38,11 \pm 0,84$   $\mu\text{g/mL}$  (*S. collinus* DC.).
- d) La actividad antioxidante frente al radical ABTS tuvo un  $CI_{50}$  de  $29,85 \pm 0,12$   $\mu\text{g/mL}$  (*S. adenophylloides* Sch. Bip.);  $44,08 \pm 0,02$   $\mu\text{g/mL}$  (*S. graveolens* Weed) y  $52,56 \pm 0,03$   $\mu\text{g/mL}$  (*S. collinus* DC.).
- e) La actividad antioxidante frente FRAP tuvo un  $CI_{50}$  de  $5,49 \pm 0,04$   $\mu\text{g/mL}$  (*S. adenophylloides* Sch. Bip.);  $7,85 \pm 0,03$   $\mu\text{g/mL}$  (*S. graveolens* Weed) y  $6,23 \pm 0,07$   $\mu\text{g/mL}$  (*S. collinus* DC.).



## VII. RECOMENDACIONES

- Caracterizar mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) los compuestos fenólicos presentes en las tres especies de género *Senecio* estudiadas.
- Medir la actividad antioxidante mediante pruebas *in vivo* para confirmar su potencial efecto antioxidante.
- Preparar extractos de las hojas de las tres especies de género *Senecio* con otros solventes orgánicos y comparar su potencial antioxidante.





## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Beltrán H., Roque J. El género *Senecio* L. (Asteraceae-Senecioneae) en el departamento de Lima, Perú. Rev. Arnaldoa del Museo de Historia Natural, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos [Internet] 2015 [acceso 18 de marzo de 2017]; vol. 14(1), 395 - 412. Disponible en: <http://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/view/208>
2. Rivas C., Oranday M., Verde M. Investigación en plantas de importancia médica. Universidad Autónoma de Nuevo León-México: Ediciones OmniaScience; 2016.
3. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. Journal of Natural Products. 2000; Vol. 63(7): 1035-1042.
4. Guija E., Inocente M., Ponce J. y Zarzosa E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. Horiz Med. Enero-marzo 2015; Vol 15(1): 57-60.
5. Celik SE, Ozyürek M, Güçlü K, Apak R. Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods. Talanta [revista en Internet]. 2010 Jun. [acceso 19 de Agosto de 2017]; Vol. 81(4-5):1300-1309. Disponible en: <https://sci-hub.bz/10.1016/j.talanta.2010.02.025>
6. Pereira M., Steffens R., Jablonski A., Hertz P., Ríos A., Vizzotto M., y Flores, A. Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family. J Agric Food Chem [revista en Internet]. 2012 marzo. [acceso 19 de Agosto de 2017]; Vol. 60: 3061-3067. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/221684143\\_Characterization\\_and\\_Antioxidant\\_Potential\\_of\\_Brazilian\\_Fruits\\_from\\_the\\_Myrtaceae\\_Family](https://www.researchgate.net/publication/221684143_Characterization_and_Antioxidant_Potential_of_Brazilian_Fruits_from_the_Myrtaceae_Family)
7. Marwah RG., Fatope MO., Mahrooqi RA., Varma GB, Abadi HA., Khamis S., Burtamani-Al. Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. Food Chemistry. [revista en Internet]. 2007 junio. [acceso 22 de Agosto de 2017]; Vol. 101:465-470. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606001099>
8. Albayrak S., Aksoy A., Yurtseven L. y Yaşar A. A Comparative study on Antioxidant and Antimicrobial Activities of four *Senecio* L. Species from Turkey. International Journal of Secondary Metabolite. Mayo 2015; vol. 2(2): Pág. 26-36.
9. Stankovic M., Niciforovic N., Mihailovic V., Topuzovic M., Solujic S. Antioxidant activity, total phenolic content and flavonoid concentrations of different plant parts of *Teucrium polium* L. subsp. *polium*. Acta Societatis Botanicorum. 2012 abril-junio; Vol. 81 (2) pp 117-122.
10. Mesa A., Zapata S., Arana L., Zapata I., 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 febrero; vol. 14(1).
11. Orjuela A. Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de hojas de *Chromolaena perglabra* (B.L. Robinson) R.M. King y H. Robinson. [tesis para obtener grado]. Santiago: Universidad de Ciencias Aplicadas Y Ambientales- Bogotá; 2015.
12. Tovar J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH Y ABTS de 30 plantas recolectadas en la eco región cafetera [tesis para título]. Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira; 2013.
13. Palomino L., García C., Gil J., Rojano B., Durango D. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). Vitae [internet].

- 2009 Sep. [acceso 22 de febrero de 2017]; 16(3): 388-395. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?Script=sci\\_arttext&pid=S0121-40042009000300013&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S0121-40042009000300013&lng=en).
14. Ochoa K., Paredes L., Bejarano D. y col. Extraction, characterization and evaluation of antibacterial activity of essential oil of *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia Agropecuaria*. 2012; vol. 26(3).
  15. Zavala E. Capacidad antioxidante, regeneradora y factor de protección solar de la cáscara de *Mangifera indica* L. "mango". [Grado académico]. Trujillo-Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2017.
  16. Aucasime L. Herbario Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 2013.
  17. Tello G. Etnobotánica de plantas con uso medicinal en la comunidad de quero, Jauja, región Junín [tesis para título]. Perú - Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina; 2015.
  18. Echuburú C. La citotoxicidad selectiva inducida por el extracto de fitoquímico de *senecio graveolens* (asteraceae) en las células de cáncer de mama se ve reforzada por la hipoxia. *International Journal of Oncology*. 2014; vol. 44: pág. 1357-1364.
  19. Araya J., Squeo F., Barrientos L. Belmonte E. Mamani M. y Arancio G. Manual de plantas y canciones Aymara. Universidad de La Serena [Internet] 2003 septiembre [acceso 18 de marzo de 2017]; 23(5). Disponible en: <http://www.biouls.cl/aymara/documentos/Manual%20de%20Plantas%20y%20Canciones%20Aymara%20version%20120903.pdf>.
  20. Santander J., Otto C., Lowry D., Cuellar M. y col. Specific Gram Positive Antibacterial Activity of 4-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl) Acetophenone Isolated from *Senecio graveolens*. *British Microbiology Research Journal*. 2015; Vol. 5(2): pág. 94 - 106.
  21. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. Edit. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, 1994.
  22. Kuklinski C. Farmacognosia. Primera reimpresión. Barcelona: ediciones Omega, S.A.; 2003.
  23. Primo Y. Química orgánica básica y aplicada de la molécula a la industria. Barcelona: Editorial Reverté, S.A. pág. 915; 2007.
  24. Tarnawski M., Depta K., Grejciun D., y Szelepin, B. HPLC Determination of phenolic acids and antioxidant activity in concentrated peat extract a natural immunomodulator. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006; vol. 41(1): Pág. 182-188.
  25. Márquez MC., Vázquez GJ. Stop radicales libres: 150 recetas antioxidantes. 1ra edición. Madrid: Editorial EDAF, S.L.U; 2016.
  26. Coronado M., y col. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev. Chil. Nutr.* [revista en Internet]. 2015 Jun [citado 2017 Sep 04]; Vol. 42(2): 206-212. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
  27. Béjar E. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Jungia paniculata* (dc.) A. Gray "matico serrano" en un modelo de daño gástrico en ratas inducido por etanol 70% [tesis para obtener Grado de Magister]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
  28. Balch J., Balch P. Recetas nutritivas que curan. 2da edición. Estados Unidos de América: Editorial Penguin; 2000.
  29. Céspedes T., Sánchez D. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev. Cubana Cardiología* [revista en Internet]\* 2000. [Acceso 18 de marzo de 2017]; vol. 14(1):55-60. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/car/vol14\\_1\\_00/car08100.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/car/vol14_1_00/car08100.pdf)

30. Craig WJ. Health effects of vegan diets. American Journal of Clinical Nutrition. [revista en Internet] 2009. [acceso 18 de marzo de 2017]; vol. 89(5). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19279075>
31. Martínez S., González J., Culebras J., Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. [revista en Internet]\* 2000 [acceso 18 de marzo de 2017]; vol. 17(6). Disponible en: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/3338%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/3338%20(3).pdf)
32. Biesalski HK, Grimm P. Nutricion.1ra edicion. Madrid: Editorial Medica Panamericana S, A.; 2007.
33. Herrera O. Efecto antioxidante y antitumoral in vitro del extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata* cav. "lucraco" en línea celular de cáncer de próstata DU-145 [tesis para obtener título]. Perú- Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
34. Valenzuela P. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *ugni molinae turcz*. [tesis para título]. Chile: Universidad de Chile; 2015.
35. Parimelazhagan T. Pharmacological assays of plant-based natural products. Primera reimpression. Vol 71. India: Editorial Springer International Publishing Switzerland; 2015.
36. Chilquillo H.; Cervantes R. Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. "vira-vira" [tesis para título]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
37. Granados C., Yáñez X. y Acevedo D. Evaluación de la Actividad Antioxidante del Aceite esencial foliar de *Myrcianthes leucoxylla* de Norte de Santander (Colombia). Información Tecnológica. 2004; vol. 25(3), pág.11-16.
38. Szollosi R. y Varga I. Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP metod).Acta Biologica. 2002 enero; Vol. 46 (3-4): pág. 125-127.
39. Soriano MY. y col. Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio culcoides* Weed. Folia dermatol. Perú 2004; Vol. 15 (3): pág. 155-159.
40. Yang Y., Zhao L., Wang Y., Chang M. y col. Chemical and Pharmacological Research on Plants from the Genus Senecio. Chemistry Biodivers. 2011; vol. 8(1): pág. 13-72.
41. Azzahra L., Hmimid F., Loutfi M. y Bourhim N. Antioxidant Activity Phenolics Flavonoids and Proanthocyanidins Content of *Senecio anteuphorbium*. International Journal of Biochemistry Research & Review. 2014; 4(6): pág. 550-558.
42. Apumayta J. Caracterización de los componentes bioactivos y la aceptabilidad organoléptica del filtrante a base de Chachacoma (*Senecio graveolens*). [tesis para obtener título]. Perú - Acombamba: Universidad Nacional de Huancavelica; 2015.
43. González PS., Fajardo V., Cuadra P. Adaptive variation of Patagonian Senecio patagonicus Hook. & Arn., *Adesmia boronioides* Hook.F. and *Lepidophyllum cupressiforme* (Lam.) Cass. as a plant response to environmental stress. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas [Internet]. 2013 [acceso 18 de noviembre de 2017]; Vol. 12(4): pág. 365-371. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85628141004>.
44. Khang DT., Dung TN. y col. Phenolic profiles and antioxidant activity of Germinated legumes. International. Foods. 2016; Vol. 5(27): pág.1-10.

45. Parra C., Soto E., León G., Salas C., Heinrich M. y Echiburú-Chau C. Nutritional composition, antioxidant activity and isolation of scopoletin from *Senecio nutans*: support of ancestral and new uses. *Natural Product Research*, 2017; vol. 6: pág.1-4.
46. Chirinos R., Pedreschi R., Rogez H., Larondelle Y., Campos D. Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean región. *Industrial Crops and Products*. 2013; vol. 47: pág.145– 152.
47. Doroteo V.; Díaz C.; Terry C. y Rojas R. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de 6 plantas peruanas. *Rev. Soc. Quím. Perú*. 2013; vol. 79 (1): pág.13-20
48. Tang D., Dong Y., Ren H. y He C. A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common food mung bean and its sprouts (*vigna radiata*). *Chemistry Central Journal*. 2014; vol. 8(4): pág,1-9.
49. Shalaby E. y Shanab S. Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013; vol. 7 (10): pág. 528-539.
50. Singh R., Ahluwalia V. y Sati N. Antioxidant activity of senecio amplexicaulis kunth. essential oil growing in high-altitude himalayan región. *European journal of pharmaceutical and medical research*, 2015; vol. 2(7): pág.169-172.
51. Bustamante K. Determinación de compuestos antioxidantes de subproducto de cacao "testa". [tesis para obtener título]. Ecuador- Loja: Universidad Técnica Particular de Loja; 2014.
52. Montoliu A. Respuestas fisiológicas de los cítricos sometidos a condiciones de estrés abiótico y biótico [tesis doctoral]. España - Castellón de la Plana: Universidad Jaime I; 2010.

## **IX. ANEXOS**



Anexo 1. Certificado de identificación botánica de *Senecio adenophylloides* Sch.  
Bip Ayacucho 2017.



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, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Srta. Hada Edith, VARGAS PAUCAR**,  
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	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Senecio
ESPECIE	:	<b><i>Senecio adenophylloides</i> Sch. Bip.</b>
N.V.	:	"wiscataya"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para  
los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 20 de Marzo del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
Dña. Luciana Lucasina Medina  
JEFE

Anexo 2. Certificado de identificación botánica de *Senecio graveolens* Wedd..  
Ayacucho 2017



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, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Srta. Hada Edith, VARGAS PAUCAR**,  
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	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Senecio
ESPECIE	:	<b><i>Senecio graveolens</i> Wedd.</b>
N.V.	:	"chachacoma", "wiscataya"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para  
los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 20 de Marzo del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
Blga. Laura Aucasime Medina  
JEFE



Anexo 3. Certificado de identificación botánica de *S. collinus* DC. Ayacucho 2017



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, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Srta. Hada Edith, VARGAS PAUCAR**,  
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	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Senecio
ESPECIE	:	<b><i>Senecio collinus</i> DC .</b>
N.V.	:	"jarhuancho"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para  
los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 20 de Marzo del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
**Blga. Laura Aucante Medina**  
JEFE

Anexo 4. Plantas recolectadas de las tres especies del género Senecio: *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed, *S. collinus* DC en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.

*Senecio adenophylloides*  
Sch. Bip. -



*Senecio graveolens*  
Weed .



*S. collinus* DC



Anexo 5. Obtención de los extractos de tres especies del género Senecio: *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed, *S. collinus* DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.

Pesar 5g de la muestra



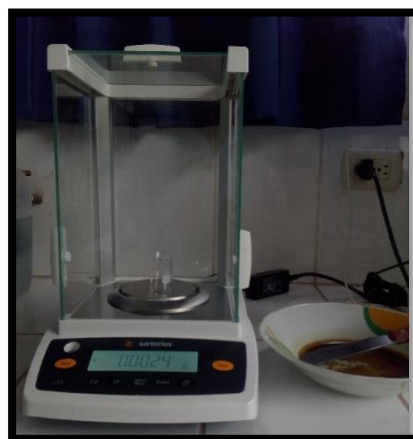
Armar equipos de soxhlet



Concentrar la muestra utilizando un rotavapor BUCHI



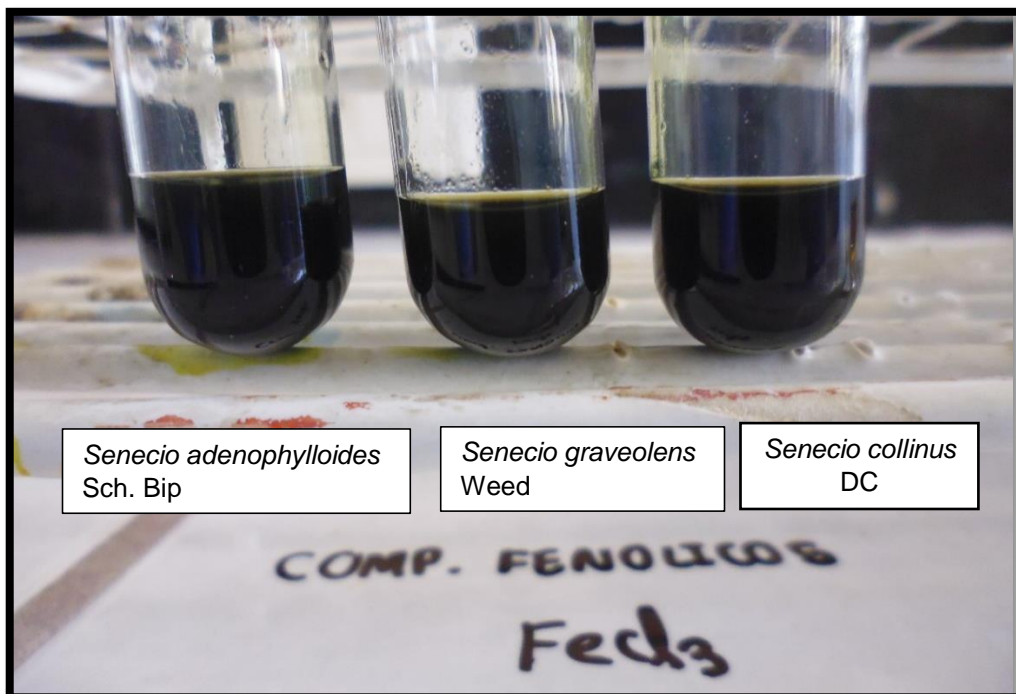
Anexo 6. Extractos secos de las hojas de las tres especies del género Senecio: *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed, *S. collinus* DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017..



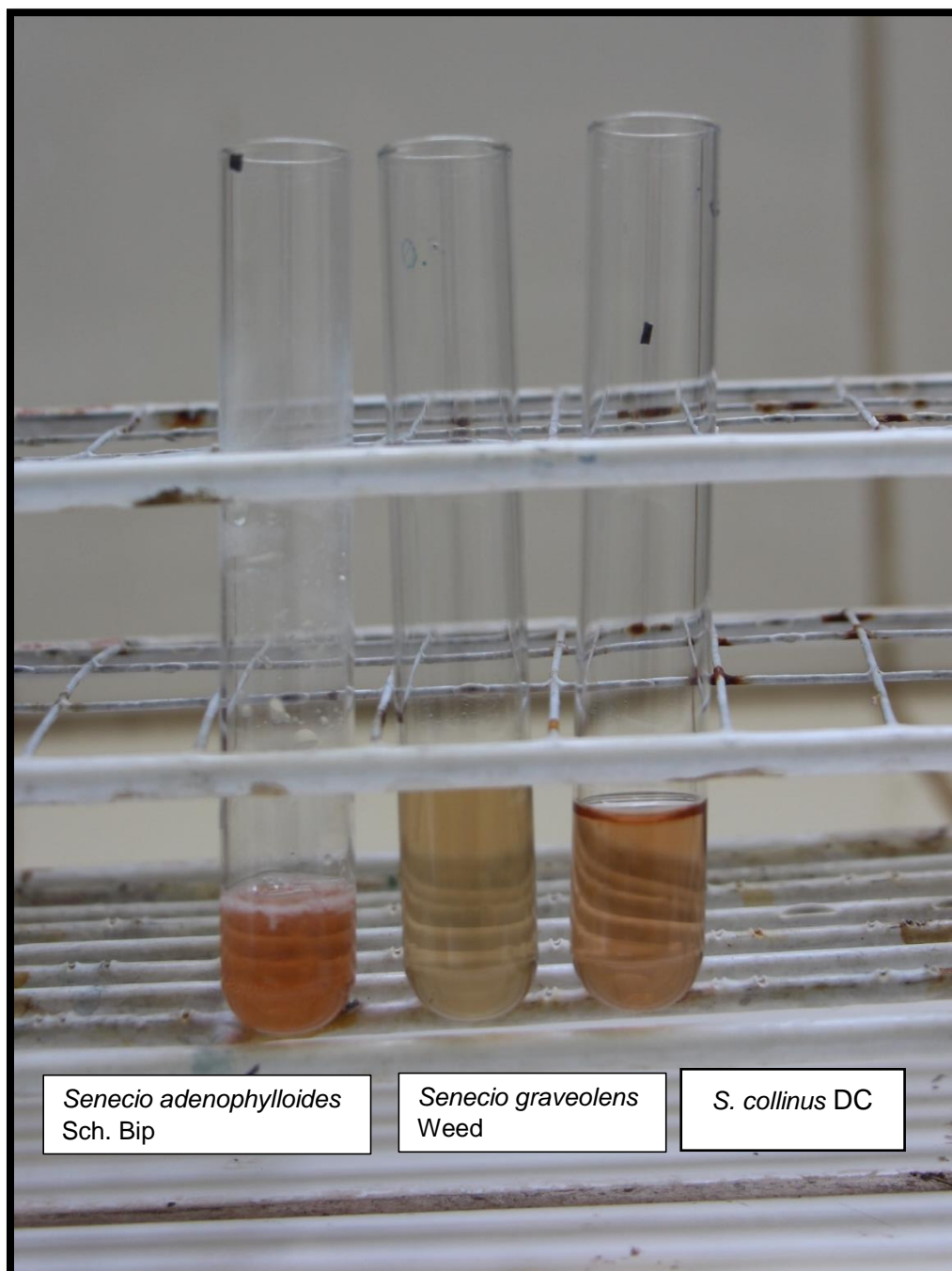
Anexo 7. Solución patrón de la tres especies del género Senecio: *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed, *S. collinus* DC. preparadas en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



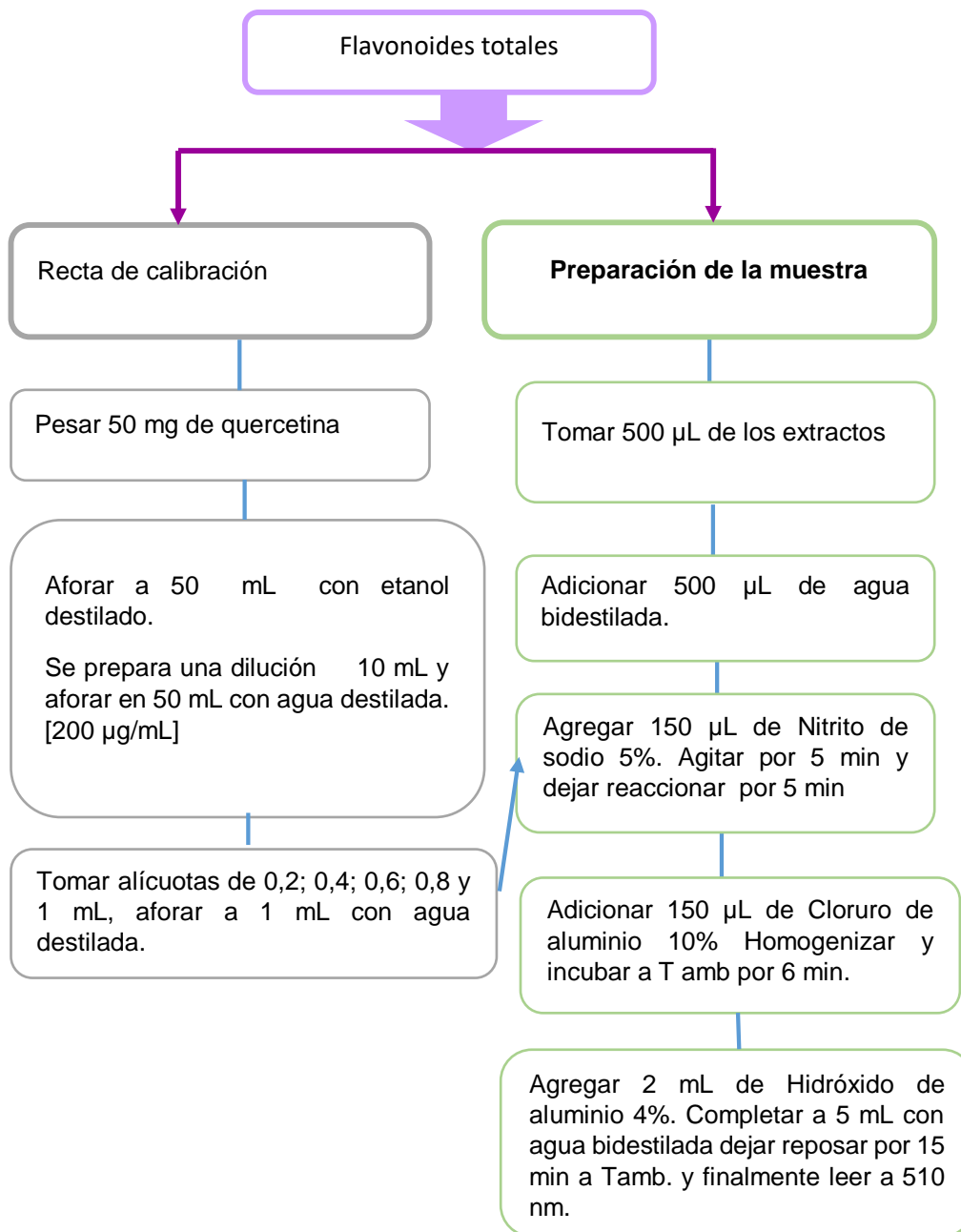
Anexo 8. Identificación de fenoles en las muestras de las tres especies del género Senecio: *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed, *S. collinus* DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



Anexo 9. Identificación de flavonoides en las muestras de tres especies del género Senecio: *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed, *S. collinus* DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.

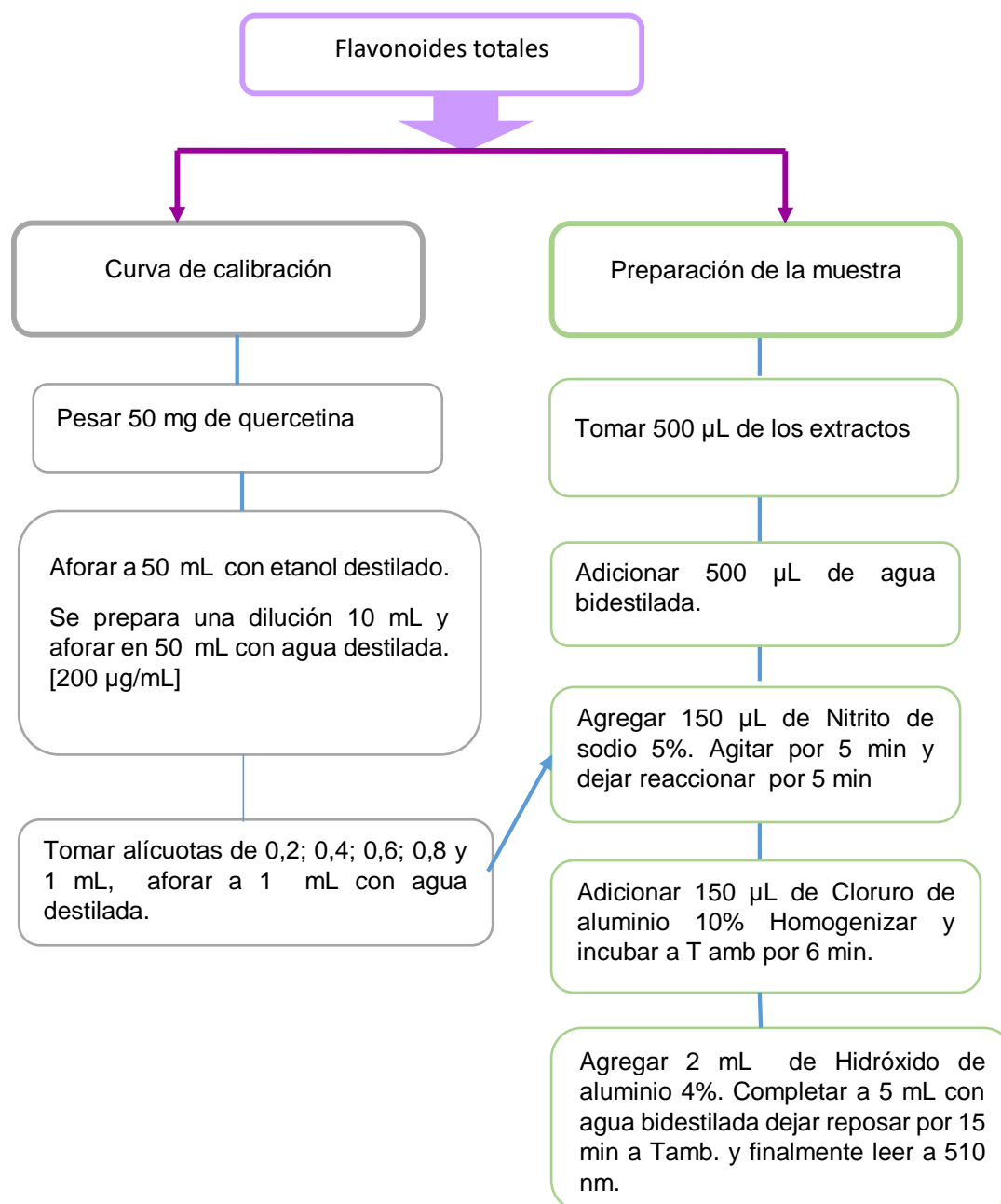


Anexo 10. Protocolo para determinación del contenido de fenoles totales en las hojas de las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.

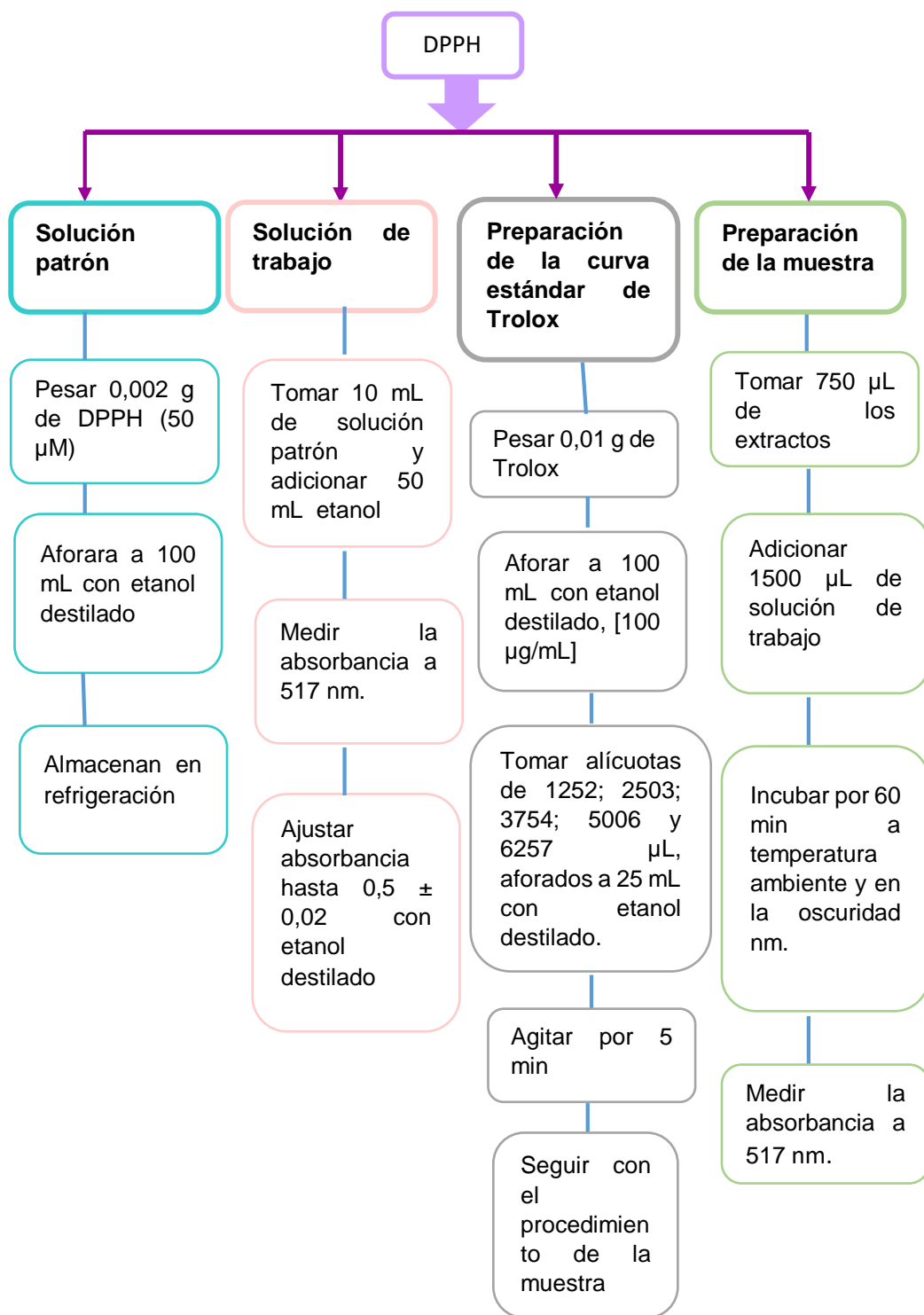




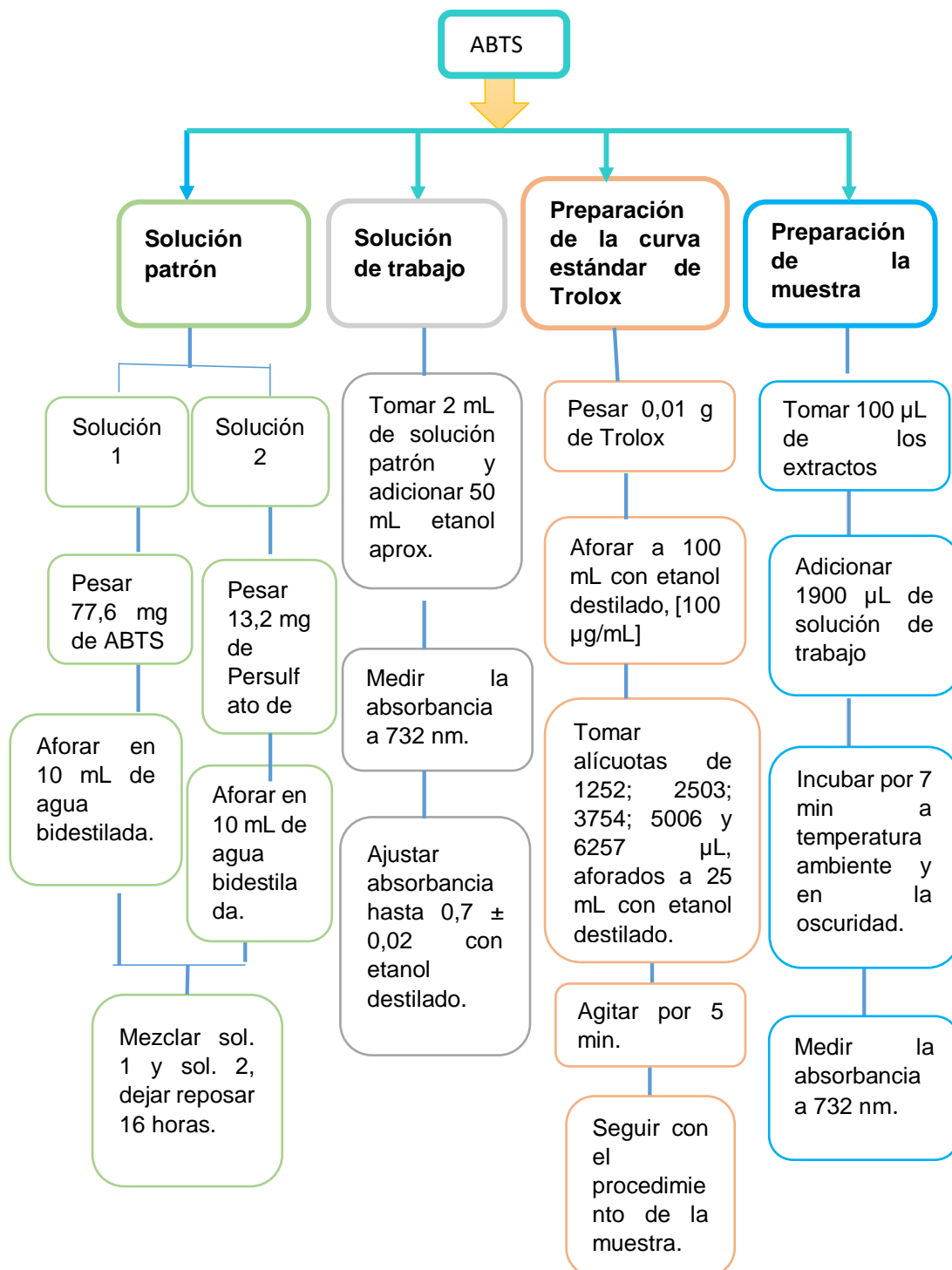
Anexo 11. Protocolo para determinación del contenido de flavonoides totales en las hojas de las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.



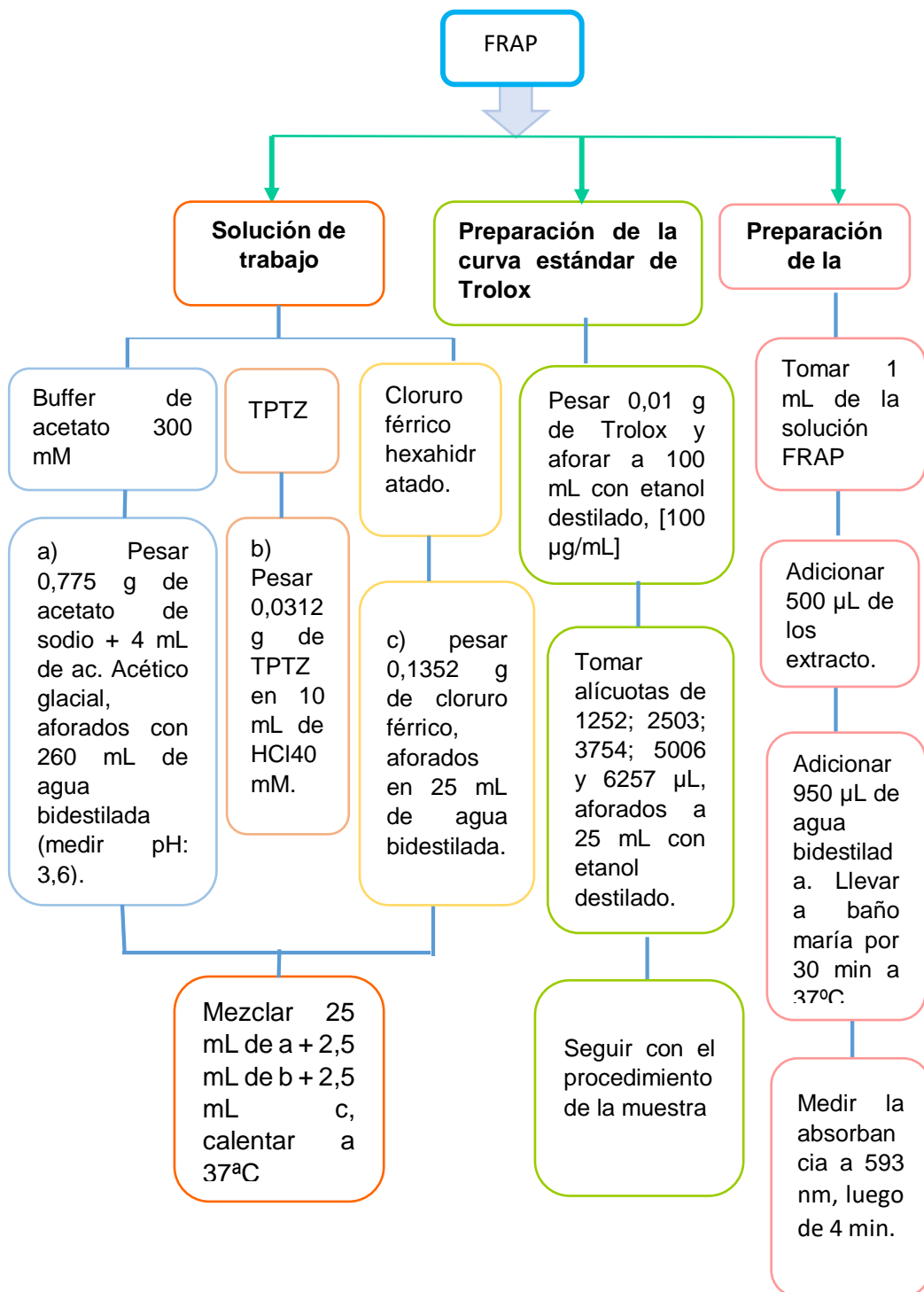
Anexo 12. Protocolo para determinación de la capacidad antioxidante por el ensayo DPPH, de las hojas de las tres especies del género *Senecio*. *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed, *S. collinus* DC. Ayacucho 2017.



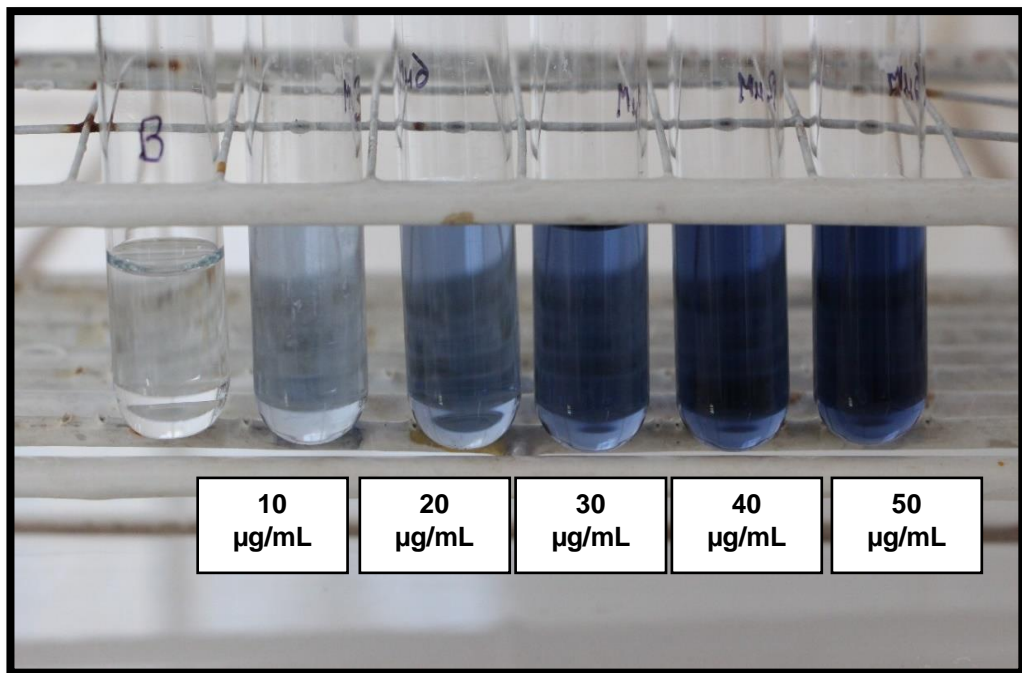
Anexo 13. Protocolo para determinación de la capacidad antioxidante por el ensayo ABTS, de las hojas de las tres especies del género *Senecio*. *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed, *S. collinus* DC. Ayacucho 2017.



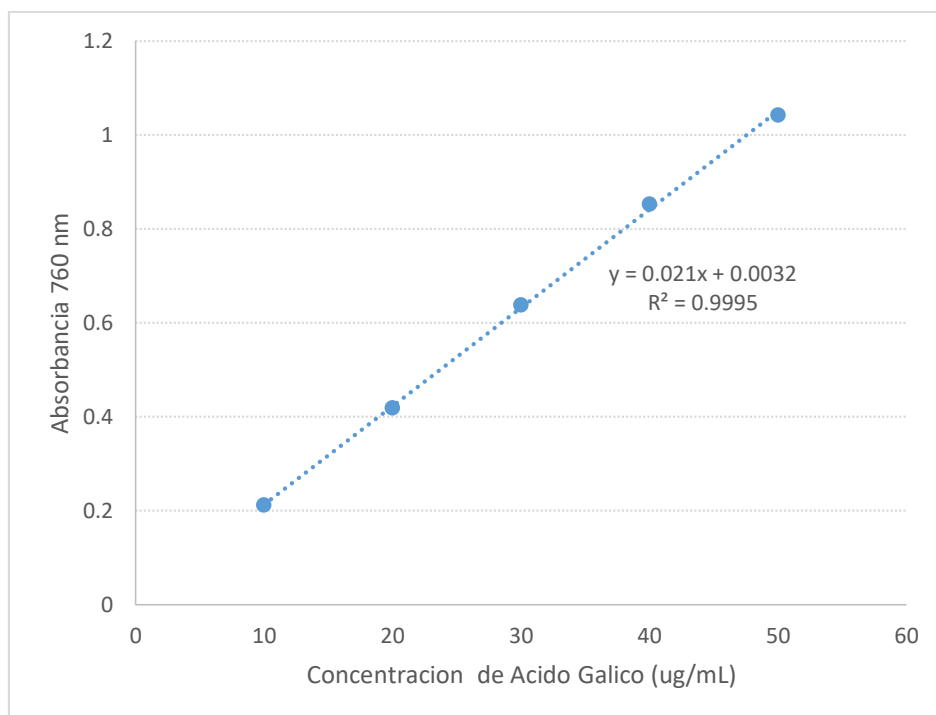
Anexo 14. Protocolo para determinación de la capacidad antioxidante por el ensayo FRAP en las tres especies del género *Senecio*. *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed, *S. collinus* DC. Ayacucho 2017.



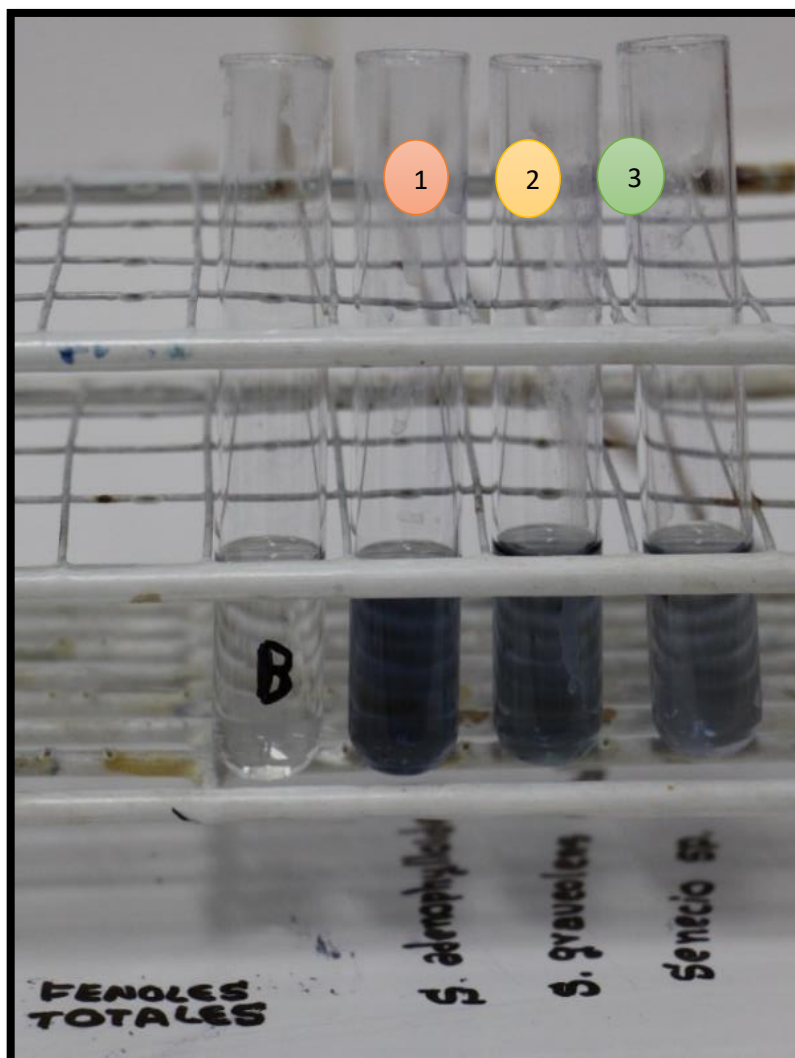
Anexo 15. Dilución del estándar Ácido gálico para la cuantificación de fenoles totales en el Laboratorio de Farmacognosia de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



Anexo 16: Curva de calibración del Ácido gálico para la determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu. Ayacucho 2017.

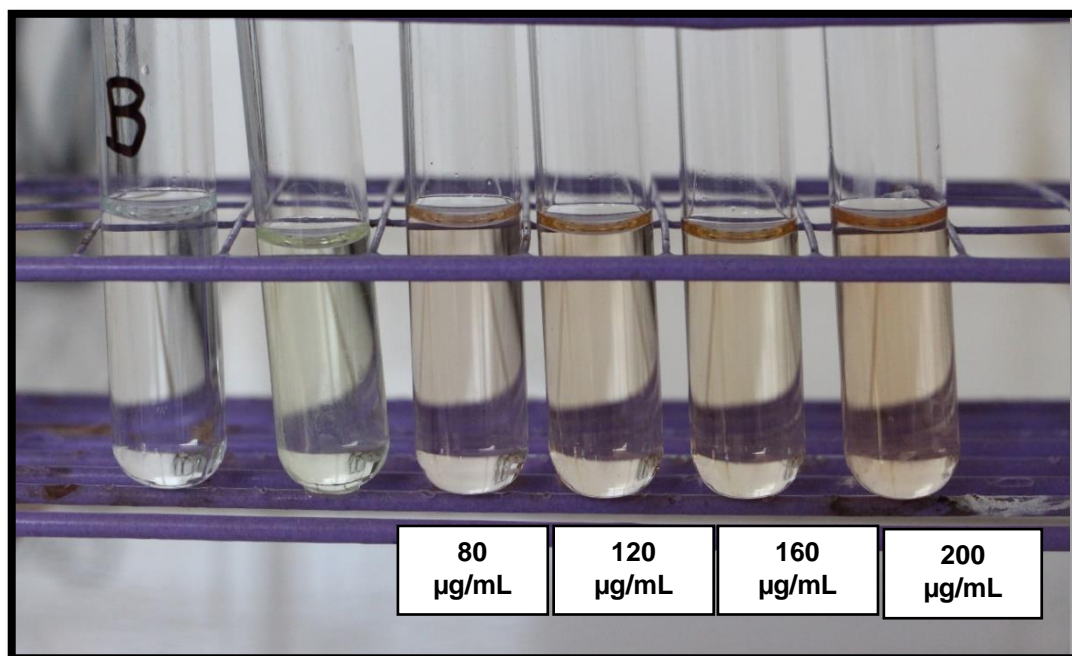


Anexo 17. Muestras para la cuantificación de fenoles totales de tres especies del género Senecio: *S. adenophylloides* Sch. Bip. (1), *S. graveolens* Weed (2), *S. collinus* DC.(3) en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



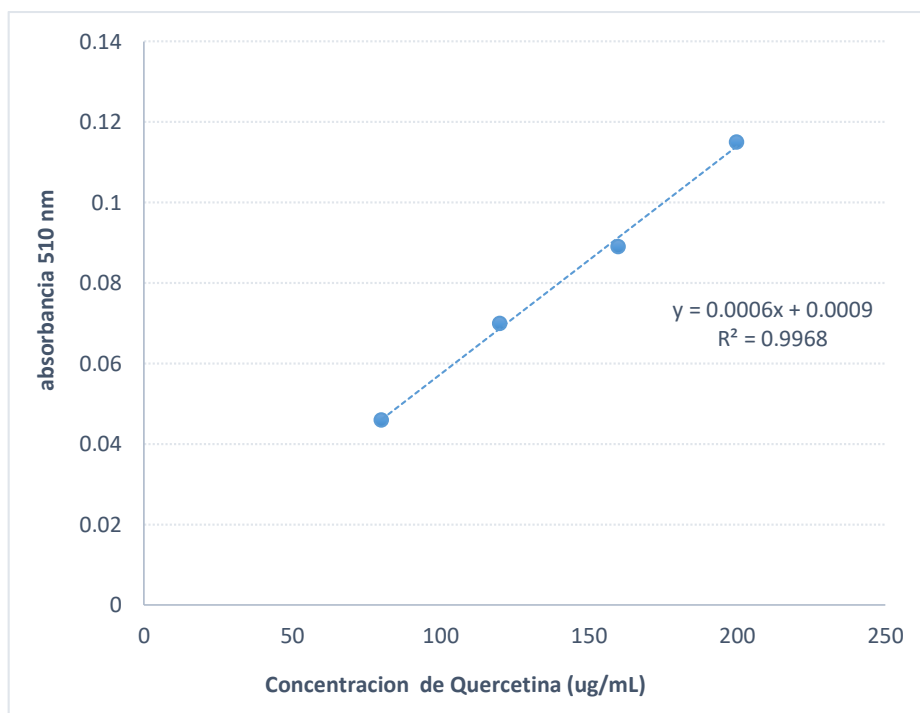
\* *senecio sp* = *S. collinus* DC

Anexo 18. Dilución del estándar Quercetina para la elaboración de la curva de calibración en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.

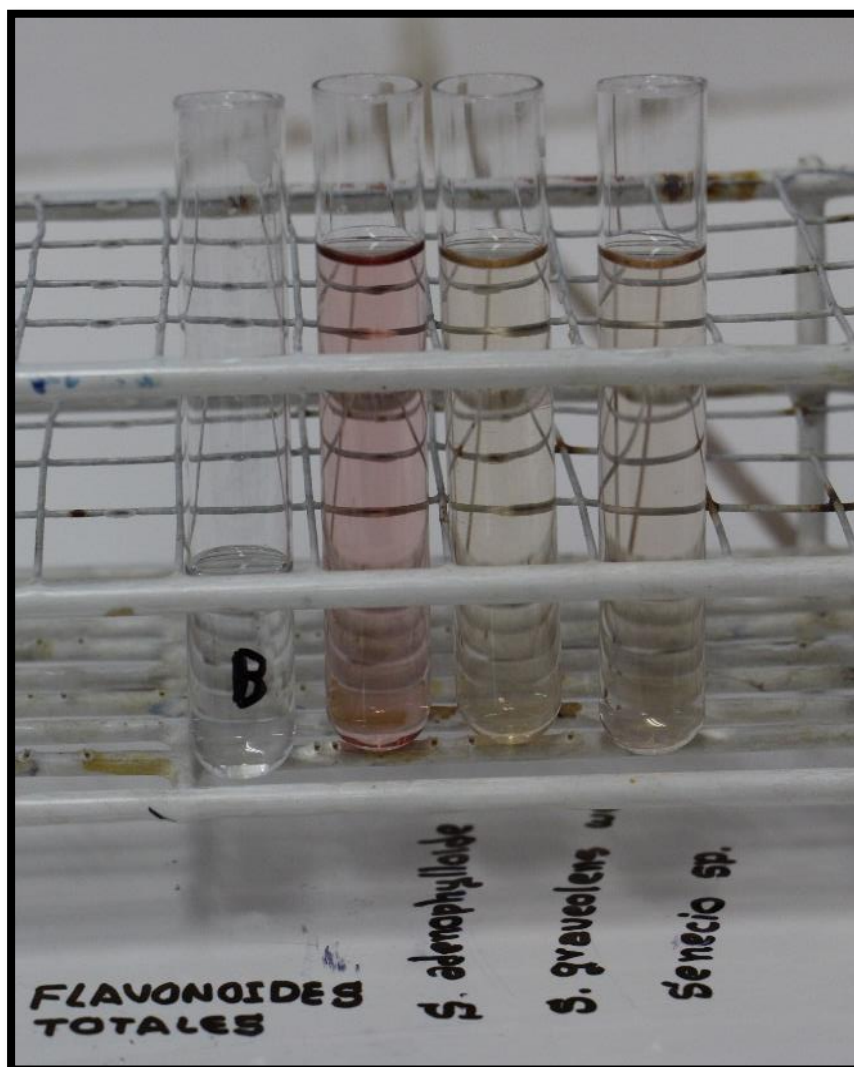




Anexo 19: Curva de calibración de Quercetina para la cuantificación de flavonoides totales. Ayacucho 2017.

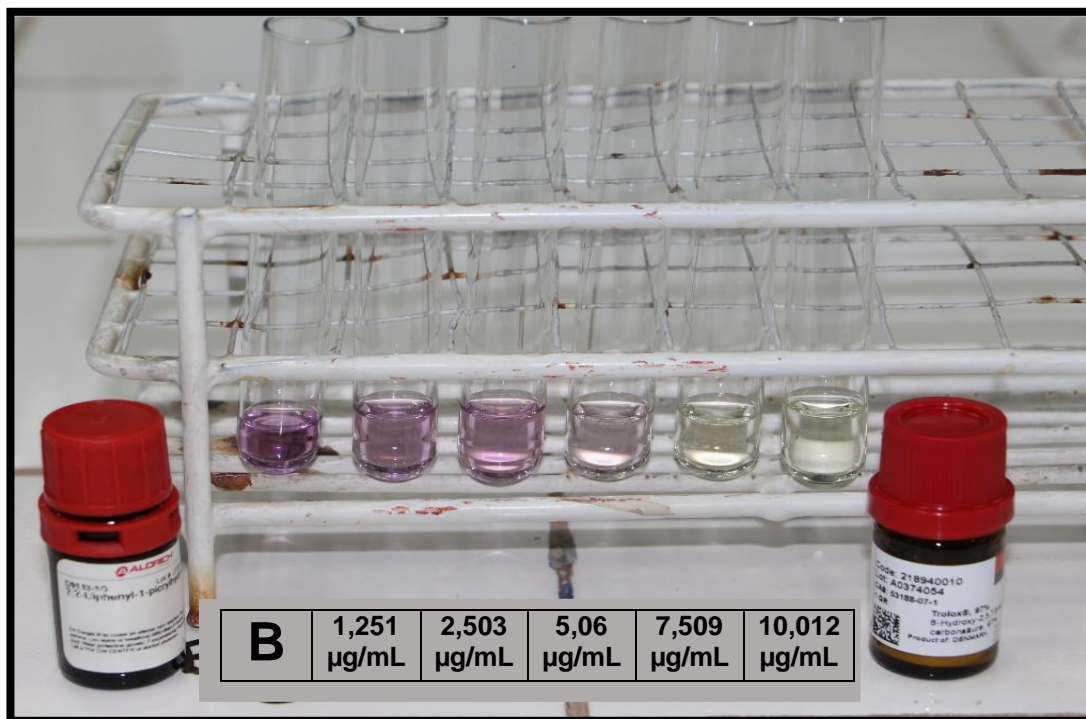


Anexo 20. Muestras para la determinación de contenido de flavonoides totales: *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed y *S. collinus* DC. en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.

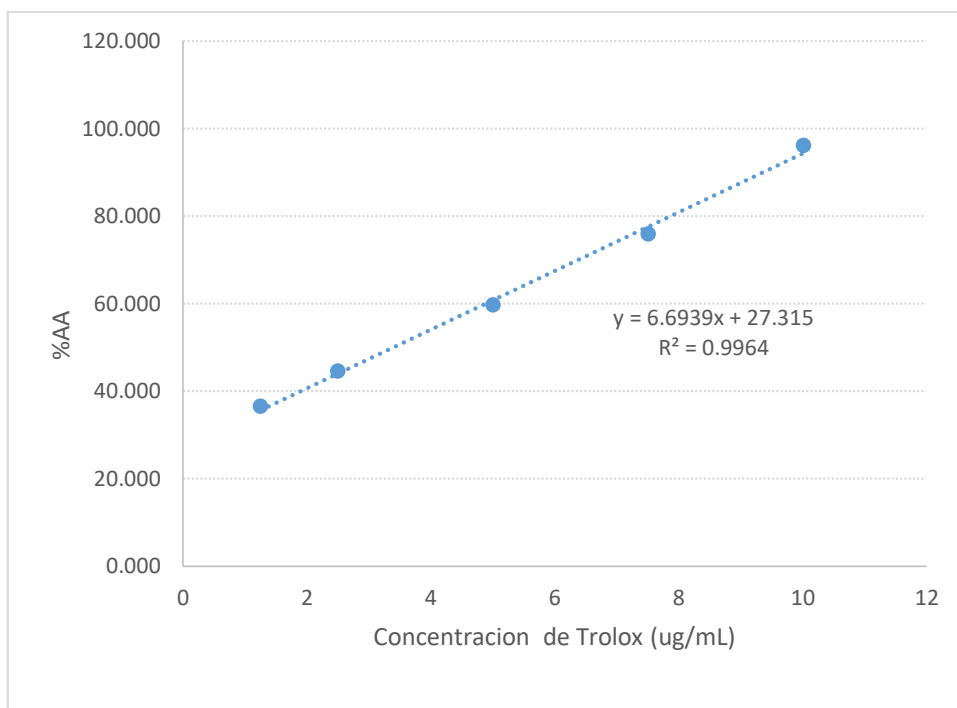


\**senecio sp* = *S. collinus* DC

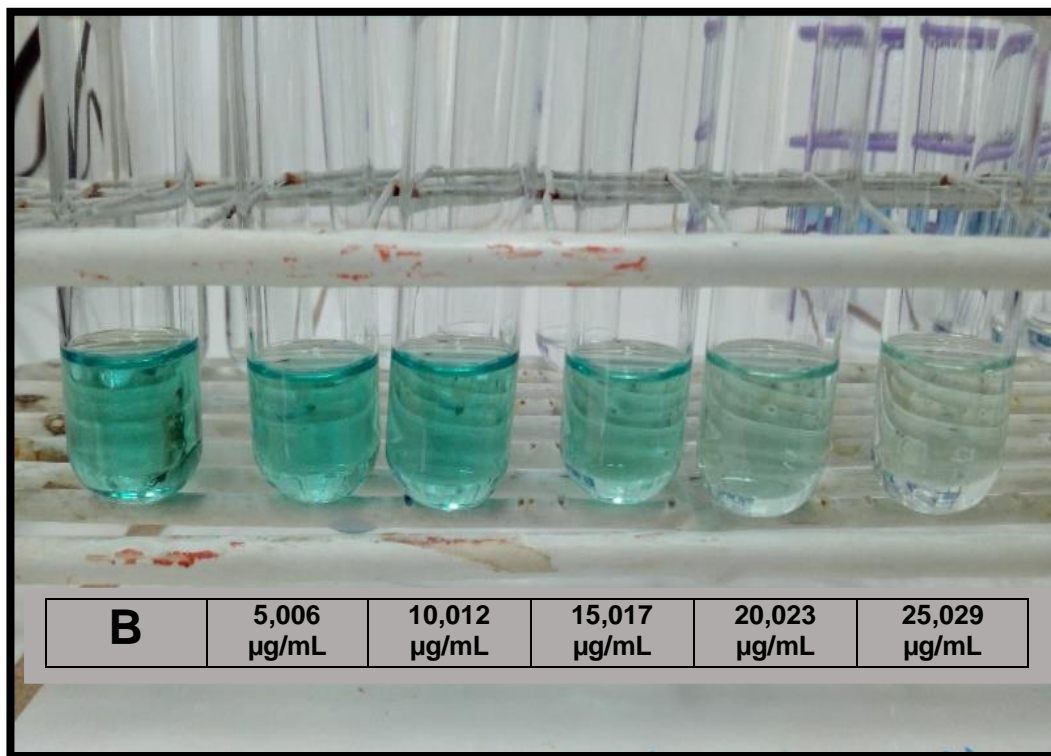
Anexo 21. Dilución del radical libre DPPH para la elaboración de la curva de calibración del Trolox en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



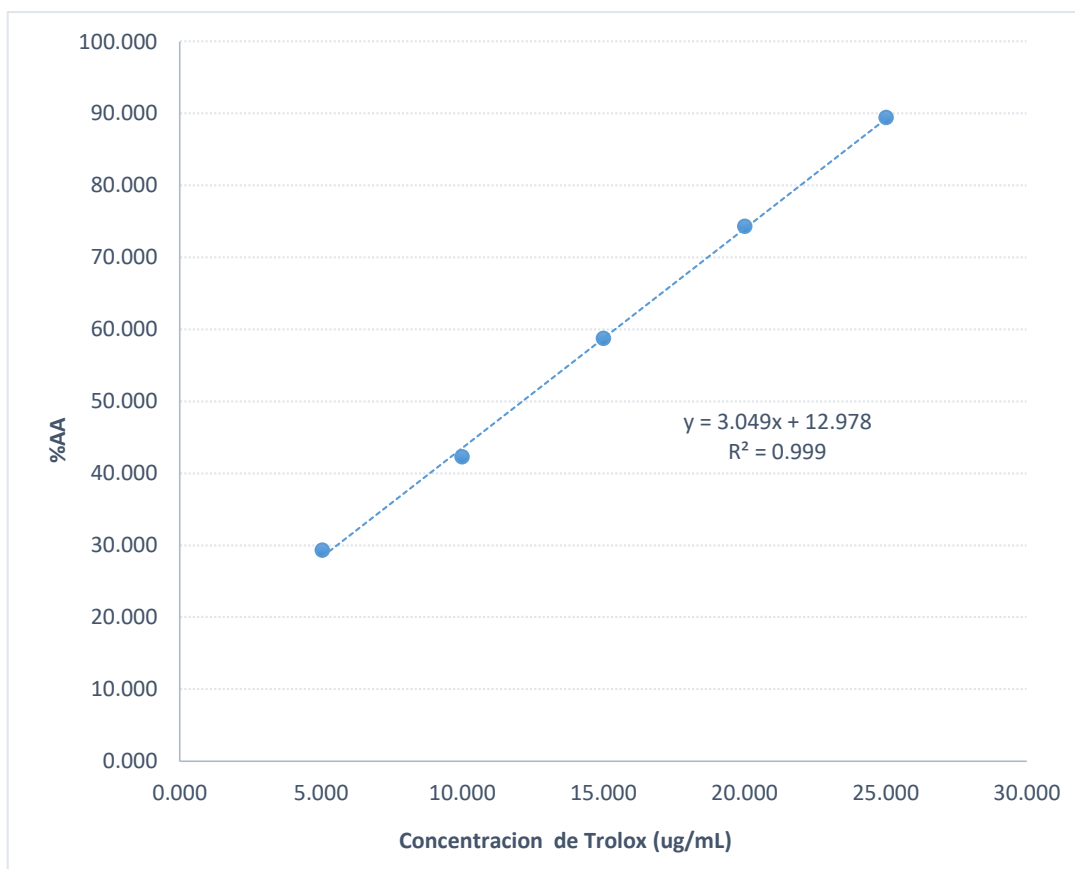
Anexo 22. Variación de la actividad antioxidante en función de las concentraciones de Trolox en el método DPPH. Ayacucho 2017.



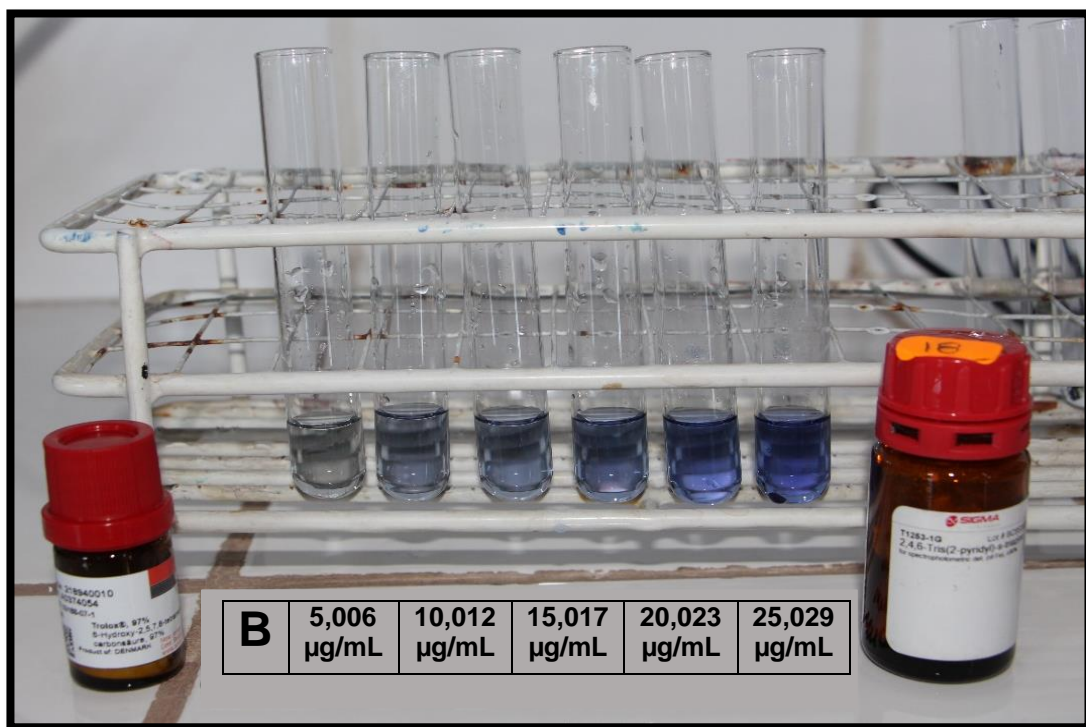
Anexo 23. Dilución del radical libre ABTS para la elaboración de la curva de calibración del Trolox en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



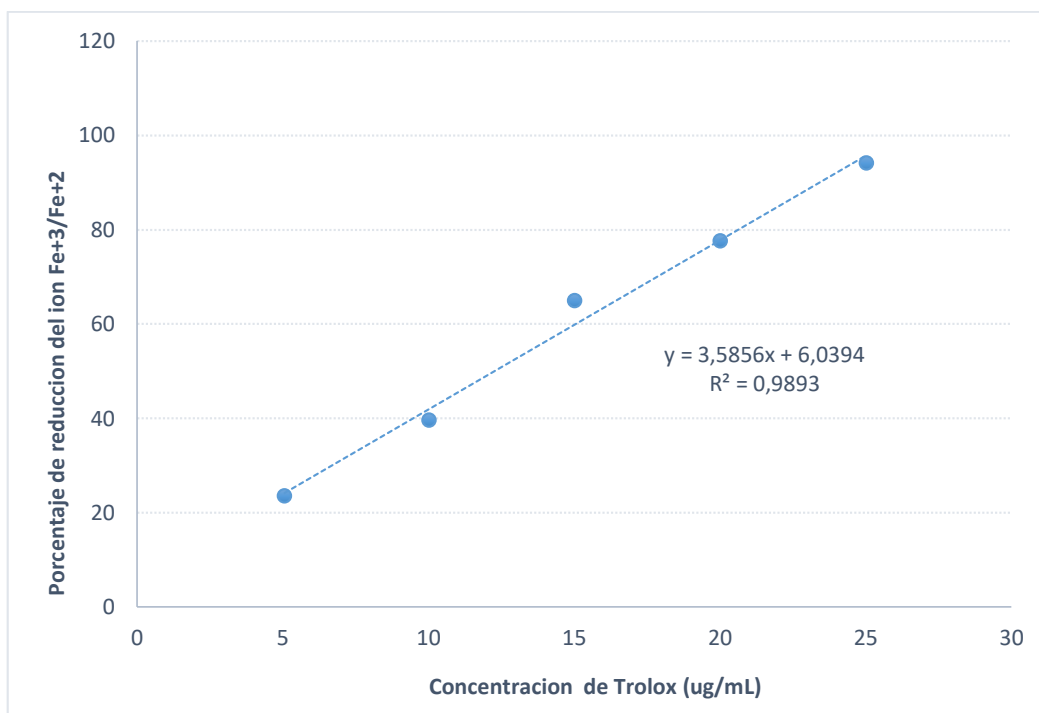
Anexo 24. Variación de la actividad antioxidante en función de las concentraciones de Trolox en el método ABTS. Ayacucho 2017.



Anexo 25. Dilución del poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) para la elaboración de la curva de calibración del Trolox en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2017.



Anexo 26. Variación de la actividad antioxidante en función de las concentraciones de Trolox en el método FRAP. Ayacucho 2017.





**Anexo 27.** Análisis de varianza de fenoles y flavonoides totales de tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Fenoles Totales (mgAG/g)	Entre grupos	3343,748	2	1671,874	3837,489	4,74E-21
	Dentro de grupos	6,535	15	,436		
	Total	3350,283	17			
Flavonoides Totales (mgQE/g)	Entre grupos	5579,667	2	2789,833	1282,563	1,71E-17
	Dentro de grupos	32,628	15	2,175		
	Total	5612,295	17			

**Anexo 28.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para determinar la diferencia significativa del contenido de fenoles y flavonoides totales en las tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.

<b>Fenoles Totales (mgAG/g)</b>				
D Tukey <sup>a</sup>				
Especies	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
<i>S. collinus</i> DC.	6	30,4730		
<i>S. graveolens</i> Weed.	6		40,5527	
<i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip.	6			63,0762
Sig.		1,000	1,000	1,000

<b>Flavonoides Totales (mgQE/g)</b>				
HSD Tukey <sup>a</sup>				
Especies	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	
<i>S. collinus</i> DC.	6	26,2000		
<i>S. graveolens</i> Weed.	6	27,4222		
<i>S. adenophylloides</i> Sch. Bip.	6		64,1447	
Sig.		,349	1,000	

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

**Anexo 29.** Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH del extracto de tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.

<b>Pruebas de efectos inter-sujetos</b>					
<b>Variable dependiente:</b> Actividad secuestradora del radical DPPH (%)					
<b>Origen</b>	<b>Tipo III de suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo corregido	4234,889 <sup>a</sup>	8	529,361	1069,608	1,12E-48
Intersección	112463,644	1	112463,644	227240,000	5,58E-85
Concentración	3931,771	2	1965,886	3972,198	2,45E-51
Especie	66,635	2	33,317	67,320	2,97E-14
Concentración * Especie	236,483	4	59,121	119,457	2,33E-23
Error	22,271	45	,495		
Total	116720,805	54			
Total corregido	4257,160	53			

a. R al cuadrado = ,995 (R al cuadrado ajustada = ,994)

**Anexo 30.** Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la captación del radical ABTS del extracto de tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.

<b>Pruebas de efectos inter-sujetos</b>					
<b>Variable dependiente:</b> Actividad secuestradora del radical ABTS (%)					
<b>Origen</b>	<b>suma de cuadrados de tipo III</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo corregido	56033,062 <sup>a</sup>	8	7004,133	69752,177	4,19E-25
Intersección	177782,979	1	177782,979	1770490,385	4,8E-105
Especie	2722,890	2	1361,445	13558,247	2,71E-63
Concentración	52658,692	2	26329,346	262206,508	3,19E-92
Especie * Concentración	651,480	4	162,870	1621,976	5,31E-48
Error	4,519	45	,100		
Total	233820,560	54			
Total corregido	56037,581	53			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

**Anexo 31.** Análisis de varianza de la actividad antioxidante mediante la reducción del ion férrico Fe<sup>+3</sup> a ferroso Fe<sup>+2</sup> del extracto de tres especies del género Senecio. Ayacucho 2017.

<b>Pruebas de efectos inter-sujetos</b>					
Variable dependiente: Poder Reductor del Hierro - FRAP (%)					
<b>Origen</b>	<b>Tipo III de suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo corregido	11189,543 <sup>a</sup>	8	1398,693	4489,534	1,19E-62
Intersección	309991,892	1	309991,892	995014,049	2,08E-99
Concentración	10172,414	2	5086,207	16325,741	4,17E-65
Especie	836,281	2	418,141	1342,151	7,69E-41
Concentración * Especie	180,848	4	45,212	145,121	4,19E-25
Error	14,020	45	,312		
Total	321195,454	54			
Total corregido	11203,562	53			

a. R al cuadrado = ,999 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Anexo 32. Matriz de consistencia. Ayacucho 2017.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	MARCO TEÓRICO	VARIABLE	METODOLOGÍA
<p>Contenido de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies del género Senecio y determinación de su actividad antioxidante <i>in vitro</i>. Ayacucho, 2017.</p>	<p>¿Cuál de las especies del género Senecio contendrá flavonoides, fenoles totales y cuál tendrá mejor actividad antioxidante?</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b> Comparar la actividad antioxidante <i>in vitro</i> de las tres especies del género Senecio.</p> <p><b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Comprobar la presencia de fenoles y flavonoides en las hojas de las tres especies del género Senecio.</li> <li>2. Determinar el contenido de flavonoides y fenoles totales.</li> <li>3. Determinar la actividad antioxidante <i>in vitro</i> del extracto obtenido e las hojas de las tres especies del género Senecio.</li> </ol>	<p>Las especies del género Senecio tienen diferentes concentraciones de flavonoides, fenoles totales por ende diferente actividad antioxidante</p>	<p><b>ANTECEDENTE:</b> <b>Ochoa et al.</b>, determinaron que la utilización de plantas pertenecientes al género Senecio como plantas medicinales es debido a la presencia de diferentes clases de metabolitos secundarios, puesto que son ricos en monoterpenoides, sesquiterpenoides, flavonoides, entre otros. Por otro lado, las actividades biológicas comprobadas para estas especies son variadas, tales como, propiedades insecticidas, actividades antimicrobiana, citotóxica, antiviral y antioxidante.</p> <p><b>Soriano et al.</b>, determinaron que las especies del género Senecio tienen buena actividad en el tratamiento del asma bronquial y también se han reportado resultados óptimos de efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Especies del género Senecio</li> <li>• contenido de flavonoides.</li> <li>• contenido de fenoles totales</li> <li>• Actividad antioxidante.</li> </ul>	<p><b>Enfoque de investigación:</b> cuantitativo</p> <p><b>Tipo de investigación:</b> Básico – Descriptivo</p> <p><b>Población y Muestra:</b> Hojas de <i>Senecio adenophylloides</i> Sch. Bip, <i>S. collinus</i> DC, <i>Senecio graveolens</i> Weed en cantidades de un kg.</p> <p><b>Unidad experimental:</b> Se preparó un extracto etanol al 80% con los desecados de las hojas de las tres especies del género Senecio en un equipo de soxhlet.</p> <p><b>Metodología:</b> Se determinó la actividad antioxidante mediante el método de captación de radical 2,2-difenilpicril-1-hidracil (DPPH), el radical ácido 2,2'azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS) y reducción de energía antioxidante férrica (FRAP)</p> <p><b>Análisis estadístico:</b> Se realizara un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un nivel de significancia del 95% (<math>p=0,05</math>).</p>

