

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS OBTENIDOS DE LAS HOJAS DE *Senecio rufescens* DC

Enrique Javier Aguilar Felices^a, Pablo Enrique Bonilla Rivera^b,
Edwin Carlos Enciso Roca^a,

RESUMEN

Senecio rufescens DC es una planta altoandina utilizada tradicionalmente para tratar problemas del “mal de altura” y de dolencias gastrointestinales. En el proceso de adaptación a condiciones extremas, desarrolló su capacidad para biosintetizar metabolitos secundarios de gran importancia terapéutica como son los compuestos fenólicos. Por tanto, esta investigación se desarrolló con el objetivo de determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides, flavonoles y la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas y de sus fracciones de *n* – hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanólica, respectivamente. La fracción metanólica, mostró el mayor contenido de fenoles totales ($149,81 \pm 5,02$ GAE/g de extracto), flavonoides ($47,33 \pm 2,27$ QE/g de extracto) y flavonoles ($14,34 \pm 0,69$ QE/g de extracto) ($p < 0,05$), respectivamente, mientras que su capacidad antioxidante ($529,80 \pm 14,30$; $444,38 \pm 11,31$; $406,86 \pm 24,58$ μ moles ET/g de extracto, para los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente) fue superior a las otras fracciones ($p < 0,05$). Se concluye que la fracción metanólica del extracto metanólico, demostró poseer un alto contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles, así como, una alta capacidad antioxidante, respectivamente.

Palabras clave: *Senecio rufescens* DC., compuestos fenólicos, capacidad antioxidante.

ANTIOXIDANT CAPACITY OF EXTRACTS OBTAINED FROM LEAVES OF *Senecio rufescens* DC.

ABSTRACT

Senecio rufescens DC. is a South American Andean plant traditionally used to treat “altitude sickness” and gastrointestinal ailments. In the process of adaptation to extreme conditions, it developed its ability to biosynthesize secondary metabolites of great therapeutic importance such as phenolic compounds. Therefore, this research was developed with the objective

^a Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Av. Independencia s/n Ciudad Universitaria, Ayacucho, Perú,

*enrique.aguilar@unsch.edu.pe

^b Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

of determining of total phenols, flavonoids, flavonols and the antioxidant capacity of the methanolic extract of the leaves and its fractions of *n* - hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanolic, respectively. The methanolic fraction showed the highest content of total phenols ($149,81 \pm 5,02$ GAE/g of extract), flavonoids ($47,33 \pm 2,27$ QE/g of extract) and flavonols ($14,34 \pm 0,69$ QE/g of extract) ($p < 0,05$), while, its antioxidant capacity ($529,80 \pm 14,30$; $444,38 \pm 11,31$; $406,86 \pm 24,58$ μ moles ET/g of extract, for the DPPH, ABTS and FRAP tests, respectively) was higher than the other fractions ($p < 0,05$). It is concluded that the methanolic fraction of the methanolic extract was shown to have a high content of total phenols, flavonoids and flavonols, as well as a high antioxidant capacity, respectively.

Key words: *Senecio rufescens* DC., phenolic compounds, antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

El género *Senecio*, es uno de los géneros más diversos de la familia Astearaceae con más de 1500 especies y en el Perú se han reportado 177 especies con distribución restringida, consideradas como endémicas y adaptadas a altitudes superiores a 4000 msnm¹. Se caracterizan por tener en su composición química monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, triterpenoides, esteroides, flavonoides, cumarinas, ácidos fenólicos y alcaloides². Se ha reportado que extractos obtenidos de las partes aéreas de otras especies de *Senecio* tienen actividad antioxidante, en las cuales se hicieron responsables de dicha actividad a los compuestos fenólicos^{3,4,5}.

S. rufescens DC, es un arbusto erguido de 40 – 70 cm de altura, parcialmente caducifolio hacia la base, tallos densamente hojosos hacia el ápice; hojas sésiles, dispuestas en fascículos laterales, lineares a linear – lanceoladas, enteras, márgenes conspicuamente resolutas, densamente glanduloso – pubescente en ambas caras, de 2 a 3 cm de longitud por 1,5 a 3 mm de ancho; inflorescencias en cabezuelas discoideas, solitarias, en el ápice de las ramas laterales; involucrio acampanulado de 8 – 10 mm de largo por 10 mm de diámetro; brácteas involucrales lineal – lanceoladas, glandulosas, pubescentes en el dorso; flores isomorfas, hermafroditas; corola tubulosa, amarillento – parduzco, pentalobulada, fruto aquenio cilíndrico, con numerosas cerdas o pelos blancos⁶. Su adaptación a la altitud, se debe a su capacidad de tolerar el estrés biótico y abiótico, tales como, salinidad, radiación solar, temperaturas extremas, sequías y para hacer frente a sus depredadores, para el cual biosintetizan compuestos fenólicos, alcaloides y otros compuestos como mecanismos de adaptación y defensa⁷. Tradicionalmente es utilizada para dolencias estomacales y el “mal de altura”⁶.

La búsqueda de antioxidantes de origen vegetal es una preocupación permanente en la actualidad, para así poder prevenir y controlar a las enfermedades relacionadas al estrés oxidativo, tales como el envejecimiento celular, enfermedades degenerativas, diabetes, y cáncer⁴.

En el Perú, se han realizado pocos estudios sobre el contenido de compuestos fenólicos⁸ y capacidad antioxidante en especies endémicas del género *Senecio*, en particular no existen reportes para *S. rufescens* DC, el cual nos motivó a realizar esta investigación con el objetivo de determinar: el contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles; y su capacidad antioxidante utilizando los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP del extracto metanólico de las hojas de *S. rufescens* DC., y de sus fracciones de *n* – hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanólico, respectivamente.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestra vegetal

Un kilogramo de hojas frescas de *S. rufescens* DC. fueron recolectadas en el distrito de Paras, provincia de Cangallo (Ayacucho – Perú) a una altura de 4756 msnm, la localización exacta fue longitud – 74,74177187188302 y latitud -13,358120254734844. La especie fue certificada por el Mg. Hamilton Beltrán del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, dejándose una muestra en dicha institución.

Preparación de la muestra

Las hojas fueron desecadas a la sombra hasta sequedad, después fueron triturados utilizando una licuadora hasta obtener un polvo fino y conservado en refrigeración en un frasco ámbar hasta su uso.

Obtención del extracto metanólico

100 g de muestra pulverizada desecada fue extraída con dos litros de metanol (4 x 500 mL) por maceración dinámica durante cuatro horas utilizando un agitador magnético, se filtró el extracto, se reunieron los filtrados y se concentraron en un evaporador rotatorio hasta sequedad, obteniéndose un extracto seco, que fue conservado en refrigeración a 4 °C, hasta su posterior uso. Se pesó el extracto y se determinó el porcentaje de rendimiento en relación a 100 g de muestra seca en polvo.

Fraccionamiento del extracto metanólico por cromatografía en columna

Una columna cromatográfica de vidrio (1,5 cm x 60 cm) fue empacada con 25 g de silica gel 60 para columna cromatográfica (70 – 230 mesh, Merck ®) y eluida con *n* - hexano. 5 g del extracto metanólico se mezcló con silica gel y se añadió a la columna cromatográfica. Seguidamente se realizaron eluciones sucesivas con 100 mL de *n* – hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol, respectivamente. Se colectó cada una de las fracciones y se evaporó a sequedad en un evaporador rotatorio hasta obtener un extracto seco; y conservados en refrigeración a 4 °C hasta su uso. Se pesó cada uno de los extractos y se determinó el porcentaje de rendimiento en relación a 5 g de extracto metanólico utilizado para el fraccionamiento.

Determinación del contenido de fenoles totales

Se utilizó el método del reactivo Folin – Ciocalteu⁹. La muestra se preparó a la concentración de 1 mg/mL en metanol. 150 µL de la muestra fue mezclada con 150 µL del reactivo de Folin – Ciocalteu (Merck ®) 0,25 N; 2400 µL de agua destilada, se mezcló por 5 min y se dejó en reposo por 3 min. Luego se añadió 300 µL de solución de carbonato de sodio 1N. La mezcla fue incubada en la oscuridad por 2 h a temperatura ambiente. La absorbancia fue leída a 725 nm (Espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 150 – THERMO SCIENTIFIC), contra un blanco de reacción. Una curva de calibración fue preparada con ácido gálico (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0 µg/mL). Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. El contenido de fenoles totales fue expresado como mg equivalentes de ácido gálico por g de extracto (mg GAE/g de extracto)

Determinación del contenido de flavonoides

Se realizó según el método descrito por Zhishen y col.¹⁰, con ligeras modificaciones. La muestra se preparó a la concentración de 1 mg/mL. En un tubo de ensayo, se mezcló 500 µL del extracto con 500 µL de agua destilada y 150 µL de nitrito de sodio al 5 %. Después de 5 min, se adicionó 150 µL de cloruro de aluminio al 10 %. Luego de 6 min, 2 mL de hidróxido de sodio al 4 % se adicionó a la mezcla. Finalmente, se completó hasta 5 mL con agua destilada y se mezcló bien en un vortex; y se dejó en reposo por 15 min a temperatura ambiente en ausencia de luz. La absorbancia fue leída a 510 nm (Espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 150 – THERMO SCIENTIFIC), contra un blanco de reacción. Una curva de calibración fue preparada con quercetina (40,0; 80,0; 120,0; 160,0; 200,0 µg/mL). Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. El contenido de flavonoides fue expresado como mg equivalentes de quercetina por g de extracto (mg QE/g de extracto).

Determinación del contenido de flavonoles

Se determinó por el método descrito por Miliauskas y col.¹¹. La muestra se preparó a la concentración de 1 mg/mL. 500 µL del extracto fue mezclado con 1 mL de cloruro de aluminio al 4 % y 3 mL de acetato de sodio al 5 %. La mezcla se dejó en reposo por 2,5 horas a 20°C. La absorbancia fue leída a 440 nm (Espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 150 – THERMO SCIENTIFIC), contra un blanco de reacción. Se preparó una curva de calibración con quercetina (0,0; 4,0; 6,0; 8,0; 16,0; 20,0 µg/mL). Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. El contenido de flavonoles fue expresado como mg equivalentes de quercetina por g de extracto (mg QE/g de extracto).

Determinación de actividad antioxidante por método de secuestramiento del radical libre 1,1 – difenil – picril – hidrazilo (DPPH)

Se desarrolló el procedimiento descrito por Brand – Williams y col., modificado por Thaipong y col.,⁹ y ajustada a las condiciones de nuestro laboratorio. La muestra se preparó a la concentración de 1 mg/mL. Se preparó una solución stock del radical libre DPPH de 20 mg/L en metanol. Se midió la absorbancia a 517 nm y se ajustó a $0,7 \pm 0,2$ con metanol. Se midió 500 µL del extracto y se adicionó a 2000 µL de la solución del DPPH y se mezcló en un vortex. La mezcla fue incubada en la oscuridad por 30 min y la absorbancia fue leída a 517

nm (Espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 150 – THERMO SCIENTIFIC). El porcentaje de la actividad secuestradora del radical libre se calculó de acuerdo a la siguiente relación:

$$\% \text{ de actividad secuestradora del DPPH} = \left[\frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{MP}}}{A_{\text{DPPH}}} \right] \times 100$$

En donde ADPPH y AMP corresponden a las absorbancias del DPPH, muestra problema tratada con DPPH, respectivamente.

Asimismo, se preparó una curva estándar con Trolox (25 – 800 μ moles) y los resultados fueron expresados como μ moles equivalentes a Trolox por gramo de extracto (μ mol ET/g de extracto).

Determinación de actividad antioxidante por el método de secuestro del catión radical del ácido 2,2'- azinobis – (3 – etilbenzotiazolina) – 6 - sulfónico (ABTS^{•+})

Se utilizó el protocolo descrito por Arnao y col., modificado por Thaipong y col⁹. La muestra se preparó a la concentración de 1 mg/mL en metanol. La solución patrón (SP), estuvo constituida por 7,4 mM de ABTS y 2,6 mM de persulfato de potasio. La solución de trabajo (ST) se preparó a partir de 1 mL de SP disuelto en metanol y se ajustó la absorbancia a $1,1 \pm 0,02$ diluyendo con metanol a la longitud de onda de 734 nm (Espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 150 – THERMO SCIENTIFIC). 150 μ L de la muestra fue mezclado con 2850 μ L de solución de ABTS^{•+} y se dejó en la oscuridad por 2 h y la absorbancia fue leída a 734 nm. Se calculó el porcentaje de captación del radical libre utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de actividad secuestradora del ABTS} = \left[\frac{A_{\text{ABTS}} - A_{\text{MP}}}{A_{\text{ABTS}}} \right] \times 100$$

En donde AABTS y AMP corresponden a las absorbancias del ABTS^{•+} y la muestra problema tratada con ABTS^{•+}, respectivamente.

Asimismo, se preparó una curva estándar con Trolox (25 – 600 μ moles). Los resultados fueron expresados como μ moles equivalentes de Trolox por g de extracto (μ mol ET/g de extracto).

Determinación de actividad antioxidante por el método de reducción de hierro (FRAP)

Se aplicó el procedimiento descrito por Benzey y Strain modificada por Thaipong y col⁹. La muestra se preparó a la concentración de 1 mg/mL en metanol. La solución patrón incluyó 300 mM de buffer acetato pH 3,6; 10 mM TPTZ (2, 4, 6 – tripiridil – triazina) disuelto en una solución de HCl 40 mM y 20 mM de solución de FeCl₃ en agua. La solución de trabajo (ST) se obtuvo mezclando 25 mL de buffer acetato, 2,5 mL de solución de TPTZ y 2,5 mL de la solución de FeCl₃, la misma que fue calentada a 37°C antes de su uso. 150 μ L de muestra fue mezclada con 2850 μ L de solución ST y se dejó en reposo por 30 minutos; y la absorbancia fue leída a 593 nm (Espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 150 – THERMO SCIENTIFIC). Una curva estándar fue preparada con Trolox (25 – 800 μ moles). Los resultados fueron expresados como μ moles equivalentes de Trolox por g de extracto (μ moles ET/g de extracto).

Análisis de datos

En la determinación del contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, flavonoles y la capacidad antioxidante por los métodos del DPPH, ABTS y FRAP, los resultados fueron expresados como la media \pm desviación estándar de tres repeticiones. El análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé fueron utilizados para demostrar las diferencias significativas entre los extractos con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Rendimiento del extracto metanólico de las hojas de *S. rufescens* DC. y de sus fracciones.

Extracto y/o fracción	Peso de muestra (g)	Peso seco de extracto y/o fracción (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
Extracto metanólico	100	40	40,00
Fracción de <i>n</i> – hexano	5	0,66	14,18
Fracción de diclorometano	5	1,85	39,79
Fracción de acetato de etilo	5	0,86	18,52
Fracción metanólica	5	1,28	27,51

Tabla 2. Contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles del extracto metanólico de *S. rufescens* DC. y de sus fracciones.

Extracto/ Fracción	Fenoles totales (mg GAE/g de extracto)	Flavonoides (mg QE/g de extracto)	Flavonoles (mg QE/g de extracto)	Relación	
				Flavonoides / Fenoles totales	Flavonoles/ flavonoides
Extracto Metanólico	$64,5 \pm 1,17^b$	$36,55 \pm 1,91^c$	$10,58 \pm 0,85^c$	0,57	0,29
Fracción de <i>n</i> – hexano	N.D.	N.D.	N.D.		
Fracción Diclorometano	$44,32 \pm 1,6^a$	$17,27 \pm 1,64^a$	$6,48 \pm 0,34^b$	0,39	0,38
Fracción de Acetato de etilo	$74,46 \pm 1,6^c$	$28,06 \pm 1,1^b$	$2,92 \pm 0,23^a$	0,38	0,1
Fracción Metanólica	$149,81 \pm 5,02^d$	$47,33 \pm 2,27^d$	$14,34 \pm 0,69^d$	0,32	0,3
Valor <i>p</i>	< 0,05	< 0,05	< 0,05		

Los resultados son el promedio \pm D.E. de tres determinaciones, las letras con superíndices diferentes significan diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tabla 3. Capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *S. rufescens* DC. y de sus fracciones.

Extracto/ Fracción	DPPH		ABTS		FRAP (μ moles ET/g de muestra)
	%	μ moles ET/g de muestra	%	μ moles ET/g de muestra	
Extracto	13,61 \pm	76,97 \pm	27 \pm	172,38 \pm	188,68 \pm
Metanólico	0,84 ^b	7,17 ^b	1,57 ^b	10,78 ^b	2,76 ^b
Fracción	2,66 \pm	0 ^a	15,28 \pm	91,71 \pm	160,8 \pm
<i>n</i> – hexano	0,93 ^a	0 ^a	1,51 ^a	10,42 ^a	1,66 ^{ab}
Fracción	3,96 \pm	0 ^a	14,44 \pm	85,93 \pm 4 ^a	124,89 \pm
Diclorometano	0,47 ^a	0 ^a	0,58 ^a		0,17 ^a
Fracción	23,27 \pm	159,82 \pm	25,52 \pm	162,16 \pm	244,59 \pm
Acetato de etilo	3,41 ^c	29,24 ^c	1,25 ^b	8,6 ^b	3,18 ^c
Fracción	66,41 \pm	529,80 \pm	66,54 \pm	444,38 \pm	406,86 \pm
Metanólica	1,67 ^d	14,3 ^d	3,07 ^c	11,31 ^c	24,58 ^d
Valor <i>p</i>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Los resultados son el promedio \pm D.E. de tres determinaciones, las letras con superíndices diferentes significan diferencias significativas ($p < 0,05$).

En la tabla 1 se muestra el rendimiento del extracto metanólico de las hojas de *S. rufescens* DC., y de cada una sus fracciones. Se obtuvo un rendimiento de 40 % de extracto metanólico, un porcentaje muy alto, posiblemente porque hemos utilizado metanol sin dilución y por haber realizado una extracción dinámica por agotamiento (4 x 500 mL); y no una maceración simple. Mientras que en las fracciones, la fracción de diclorometano mostró el mayor porcentaje (39,79 %), seguido de las fracciones metanólica (27,51 %), acetato de etilo (18,52 %) y *n* – hexano (14,18 %), respectivamente. El fraccionamiento del extracto metanólico permitió separar los compuestos químicos presentes en el extracto de acuerdo a su polaridad, en el cual la fracción de diclorometano tuvo mayor porcentaje, mientras que la fracción de *n* - hexano tuvo menor porcentaje. Estas diferencias entre las fracciones se deben a la naturaleza y polaridad de los compuestos presentes en cada uno de las fracciones.

En estudios realizados con especies del género *Senecio* se han utilizado diferentes solventes para realizar la extracción de compuestos bioactivos a partir de sus partes aéreas, en el caso de *S. clivicolus* Wedd. se utilizó etanol al 96 %⁴, en *S. scandens* Buch.-Ham. etanol al 80 %¹² y en *S. glaucus* subsp *coronopifolius* (Maire) C. Alexander. metanol al 70 %¹³, con 27,06 %; 6,25 % y 7,5 % de rendimiento, respectivamente. En *S. scandens* Buch.-Ham.¹² y en *S. glaucus* subsp *coronopifolius* (Maire) C. Alexander.¹³, se utilizó maceración simple por agotamiento por siete días, mientras que, en *S. clivicolus* Wedd.⁴ se utilizó maceración dinámica obteniéndose mejores resultados, pero que es inferior al nuestro.

La literatura reporta que los terpenos, tales como monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y triterpenos, están presentes en cantidades significativas en especies del género *Senecio*²,

compuestos que pueden ser solubilizados en diclorometano y posiblemente a esto se deba el porcentaje elevado de esta fracción en *S. rufescens* DC. Asimismo, se ha reportado en otras especies del género *Senecio*, el fraccionamiento por partición líquido – líquido con solventes de polaridad creciente. En el caso de *S. glaucus* L., el extracto etanólico se fraccionó con *n* – hexano, cloroformo y *n* – butanol, obteniéndose 13,33 %, 21,76 % y 36,67 % de rendimiento³, mientras que en *S. clivicolus* Wedd. el extracto etanólico al 96 % fue fraccionado con *n* – hexano, cloroformo, acetato de etilo y *n* – butanol, obteniéndose 8,61 ± 0,75 %; 63,39 ± 5,23 %; 6,87 ± 0,39 % y 13,53 ± 0,95 % de rendimiento⁴, respectivamente. Nuestros resultados se acercan a este último, en el cual, la fracción de cloroformo tuvo el mayor porcentaje y la de *n* - hexano el menor porcentaje.

Por otro lado, en la tabla 2 presentamos el contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles presentes en el extracto metanólico de las hojas de *S. rufescens* DC. y de sus fracciones. Se observa que estos varían desde el extracto metanólico (64,5 ± 1,17 mg GAE/g de extracto; 36,55 ± 1,91 mg QE/g de extracto y 10,58 ± 0,85 mg QE/g de extracto, respectivamente), y en cada una de las fracciones en función de su polaridad. La fracción de acetato de etilo (74,46 ± 1,6 mg GAE/g de extracto; 28,06 ± 1,1 mg QE/g de extracto y 2,92 ± 0,23 mg QE/g de extracto, respectivamente) y la fracción metanólica (149,81 ± 5,02 mg GAE/g de extracto; 47,33 ± 2,27 mg QE/g de extracto y 14,34 ± 0,69 mg QE/g de extracto, respectivamente), mostraron el mayor contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles. La fracción metanólica tiene los valores más altos de los tres compuestos, posiblemente porque están unidos a restos azucarados que les proporciona mayor polaridad y por ende solubilidad en solventes más polares. Las diferencias estadísticas entre el contenido de estos tres compuestos en el extracto metanólico y en cada una de sus fracciones fueron significativas ($p < 0,05$).

Existen reportes en la literatura sobre el contenido de fenoles totales en el género *Senecio*, cuyos rangos varían desde 2,46 ± 0,11 mg GAE/g de extracto en el extracto acuoso de *S. anteuphorbium* (L) Sch.Bip.,¹⁴ hasta 170,11 ± 1,49 mg GAE/g de extracto en la fracción de acetato de etilo de *S. clivicolus* Wedd.⁴ de sus partes aéreas, respectivamente. En nuestro estudio, hemos hallado que la fracción metanólica del extracto metanólico de las partes aéreas de *S. rufescens* DC. tuvo un contenido relativamente alto de fenoles totales (149,81 ± 5,02 mg GAE/g de extracto).

En el caso de los flavonoides, también la literatura reporta un contenido variable que va desde 2,5 ± 0,2 mg EQ/g de hoja seca en una infusión de hojas de *S. viridis* Phil., hasta 35,9 ± 0,17 mg EQ/g de extracto del extracto metanólico de hojas de *S. glaucus* subsp *coronopifolius* (Maire) C. Alexander.¹³ En nuestro estudio obtuvimos valores de 36,55 ± 1,91; 28,06 ± 1,1 y 47,33 ± 2,27 mg EQ/g de extracto, del extracto metanólico y de las fracciones de acetato de etilo y metanólica, respectivamente; demostrándose que *S. rufescens* DC., posee un contenido significativo de flavonoides respecto a otras especies del género *Senecio* reportada en la literatura. Asimismo, determinamos la relación entre el contenido de flavonoides y fenoles totales en las fracciones de diclorometano, acetato de etilo y metanólica, en la cual los flavonoides representaron aproximadamente un tercio del contenido de fenoles totales en dichas fracciones.

Nosotros también hacemos el primer reporte del contenido de flavonoles en especies del género *Senecio*. En nuestro estudio, el contenido de flavonoles en el extracto metanólico y en las fracciones de diclorometano, acetato de etilo y metanólica fueron $10,58 \pm 0,85$; $6,48 \pm 0,34$; $2,92 \pm 0,23$; $14,34 \pm 0,69$ mg QE/ de extracto, respectivamente. Estos representaron también aproximadamente un tercio del contenido de flavonoides en las fracciones de diclorometano y metanólica, respectivamente. En el género *Senecio* es recurrente la presencia de flavonoles como kaempferol, quercetina, myricetina y fisetina, tanto como agliconas libres y sus derivados glicosilados^{2,4,12}.

Esta diferencia entre el contenido de fenoles totales y de flavonoides en el género *Senecio*, nos permite asumir que está cubierta por otros compuestos fenólicos, tales como ácidos fenólicos derivados del ácido clorogénico y de ácidos dicafeoilquínicos, entre otros compuestos fenólicos, quienes también poseen la habilidad para neutralizar radicales libres⁴.

Mientras que en la tabla 3 mostramos los resultados de la capacidad antioxidante del extracto y de sus fracciones de las partes aéreas de *S. rufescens* DC. En la cual, la fracción metanólica tiene la más alta capacidad antioxidante (DPPH: $66,41 \pm 1,67$ %; $529,80 \pm 14,30$ μ moles ET/g de extracto; ABTS: $66,54 \pm 3,07$ %; $444,38 \pm 11,31$ μ moles ET/g de extracto; y FRAP: $406,86 \pm 24,58$ μ moles ET/g de extracto, respectivamente), seguido del extracto metanólico ($13,61 \pm 0,84$ %; $76,97 \pm 7,17$ μ moles ET/g de extracto; ABTS: $27 \pm 1,57$ %; $172,38 \pm 10,78$ μ moles ET/g de extracto; y FRAP: $188,68 \pm 2,76$ μ moles ET/g de extracto, respectivamente). Asimismo, hallamos diferencias significativas entre la capacidad antioxidante del extracto metanólico y de cada una de las fracciones para los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP ($p < 0,05$), respectivamente.

Los ensayos de DPPH y ABTS, son ensayos que miden la capacidad de secuestro de radical libre. En el caso del ensayo del DPPH⁹, este se realiza en medio metanólico, por tanto, comprende antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos presentes en el extracto y en sus fracciones, en el cual se mide la decoloración del reactivo de color violeta a amarillo a 517 nm. Mientras que en el caso del ABTS⁹, este se desarrolla en medio acuoso, por tanto, se aborda principalmente a los antioxidantes hidrofílicos, en el cual el catión ABTS⁺ formado en el medio de reacción, se decolora de verde azulado intenso a verde azulado pálido, el cual se mide a 734 nm. Por otro lado, el ensayo del FRAP⁹ se fundamenta en la capacidad reductora del catión Fe³⁺ presente como un complejo formado con TPTZ que es de color violáceo a Fe²⁺, resultando en una intensificación del color violáceo, por ende, se incrementa su absorbancia cuando es leída a 593 nm. Por lo tanto, la decoloración de los radicales libres DPPH y ABTS se debe a la presencia de antioxidantes capaces de donar un protón a dichos radicales libres y en el caso del ensayo FRAP, se debe a la capacidad reductora del catión Fe³⁺ por parte de grupos hidróxilos. Estos compuestos, están presentes en el extracto metanólico de las hojas de *S. rufescens* DC., y de sus fracciones, principalmente como compuestos fenólicos¹⁵, tal como ha sido mostrado en la tabla 2.

Sólo existe un reporte en el género *Senecio*, en el cual, se evaluó la capacidad antioxidante utilizando los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente. En dicho reporte, la fracción

de acetato de etilo (DPPH: $317,53 \pm 5,81$ mg ET/g de extracto; ABTS: $409,53 \pm 9,53$ mg ET/g de extracto; y FRAP: $507,66 \pm 5,26$ mg ET/g de extracto, respectivamente) del extracto etanólico de las partes aéreas de *S. clivicolus* Wedd., tuvo mayor capacidad antioxidante que la fracción butanólica (DPPH: $119,54 \pm 6,71$ mg ET/g de extracto; ABTS: $208,37 \pm 3,21$ mg ET/g de extracto; y FRAP: $184,18 \pm 4,59$ mg ET/g de extracto, respectivamente)⁴. En nuestro estudio, con el ensayo de DPPH se obtuvieron valores más altos que con el ensayo FRAP, mientras que, en *S. clivicolus* Wedd., se obtuvieron resultados opuestos. Asimismo, nosotros obtuvimos una mayor capacidad antioxidante en la fracción metanólica obtenida a partir del extracto metanólico, mientras que en *S. clivicolus* Weed., se obtuvo la mayor actividad en la fracción de acetato de etilo del extracto etanólico. Esta diferencia se debe posiblemente a la naturaleza y concentración de los compuestos con capacidad antioxidante presentes en dichas fracciones y, asimismo, al origen de la muestra, puesto que *S. clivicolus* Wedd., fue colectada en el departamento de Potosí (Bolivia) a una altitud de 3750 msnm, mientras que nuestra muestra de *S. rufescens* DC., fue colectada a 4756 msnm.

En la literatura se reporta el caso del estudio de la actividad antioxidante del fruto de un cultivar de *Vaccinium corymbosum* L. y de 14 cultivares de *Vaccinium ashei* Reade “arandano”, en el cual, el rango de los resultados del ensayo de DPPH (1014,20 a 2055,06 μ moles ET/100g) fueron superiores al del ensayo de FRAP (699,78 a 1740,25 μ moles ET/100g)¹⁶, respectivamente. Por tanto, si bien estos resultados corresponden a otras especies, son compatibles con nuestro resultado, el de obtener valores más altos para el ensayo de DPPH respecto al de FRAP.

En consecuencia, con los resultados obtenidos podemos afirmar que el extracto metanólico y las fracciones de acetato de etilo y metanólica de las partes aéreas de *S. rufescens* DC., tienen compuestos con alta capacidad antioxidante, en el cual, los responsables de dicha actividad serían los compuestos fenólicos conformados por ácidos fenólicos y flavonoides principalmente, que pueden estar presentes ya sea como compuestos libres o agliconas y también como glicósidos, que son más solubles en solventes más polares como el metanol, destacando este último en nuestro estudio, por mostrar mayor capacidad antioxidante. *S. clivicolus* Wedd.⁴ y *S. scandens* Buch.-Ham.¹², se caracterizan por presentar ácidos fenólicos y derivados del ácido dicafeoilquínico, así como flavonoles y sus derivados glicosilados, los cuales poseen una gran capacidad antioxidante.

Finalmente, se hace necesario aislar los compuestos fenólicos en *S. rufescens* DC., y determinar su estructura química para explicar mejor su capacidad antioxidante y realizar otros ensayos relacionados con sus propiedades biológicas.

CONCLUSIONES

En conclusión, reportamos el contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles; y su capacidad antioxidante utilizando los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP del extracto metanólico y de sus fracciones, obtenidas a partir de las hojas de *S. rufescens* DC., resaltando

el alto contenido de compuestos fenólicos y la alta capacidad antioxidante de la fracción metanólica en los modelos ensayados.

AGRADECIMIENTO

Al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por las facilidades para la realización de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Beltrán H, Roque J. El género *Senecio* L. (Asteraceae-Senecioneae) en el departamento de Lima, Perú. *Arnaldoa*. 2015;22(2):395–412.
2. Yang Y, Zhao L, Wang Y-F, Chang M-L, Huo C-H, Gu Y-C, et al. Chemical and pharmacological research on the plants from Genus *Senecio*. *Chem Biodivers*. 2011;8(1):13–72.
3. Alqahtani AS, Herqash RN, Noman OM, Nasr FA, Alyhya N, Anazi SH, et al. *In vitro* antioxidant, cytotoxic activities, and phenolic profile of *Senecio glaucus* from Saudi Arabia. *Evid Based Complement Altern Med*. 2020;9. doi:10.1155/2020/8875430
4. Faraone I, Rai DK, Chiummiento L, Fernandez E, Choudhary A, Prinzo F, et al. Antioxidant activity and phytochemical characterization of *Senecio clivicolus* Wedd. *Molecules*. 2018;23(10):1–17.
5. Singh R, Singh P, Sati N, Sati OP. Antioxidant activity of *Senecio amplexicaulis* Kunth. extracts. *World J Pharm Sci*. 2015;3(3):600–604.
6. Pietrellini F. Las Plantas Medicinales en un piso alto y mesoandino. Estudio etnobotánico en la zona de Puquio (Ayacucho). Huamanga - Perú: Graficenter Perú EIRL; 2007. 491–492 p.
7. Baskar V, Venkatesh R, Ramalingam S. Flavonoids (Antioxidants Systems) in Higher Plants and Their Response to Stresses. In: Gupta DK, Palma JM, Corpas FJ, editors. *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*. Cham (Switzerland): Springer International Publishing AG; 2018. p. 253–268.
8. Soriano M, Bonilla P, Arroyo Acevedo J, Pereyra S. Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed. *Folia Dermatol Peru*. 2004;15(3):155–159.
9. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins Byrne D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compos Anal*. 2006;19(6–7):669–675.
10. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoids contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 1999;64:555–559.
11. Miliuskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem*. 2004;85(2):231–237.

12. Tan D-P, Chou G-X, Wang Z-T. Phenolic compounds from *Senecio scandens*. *Biochem Syst Ecol.* 2010 Feb;38(1):122–124.
13. Shaza M. Phytochemical and Biological Study of *Senecio glaucus* subsp. *coronopifolius* (Maire) C. Alexander Growing in Egypt. *J Pharm Sci.* 2015;52:283–298.
14. Lahlou F, Hmimid F, Loutfi M, Bourhim N. Antioxidant Activity Phenolics Flavonoids and Proanthocyanidins Content of *Senecio anteuphorbium*. *Int J Biochem Res Rev.* 2014;4(6):550–558.
15. Shah P, Modi HA. Comparative Study of DPPH , ABTS and FRAP Assays for Determination of Antioxidant Activity. *Int J Res Appl Sci Eng Technol.* 2015;3(98):636–641.
16. Rodrigues E, Poerner N, Rockenbach II, Gonzaga LV, Mendes CR, Fett R. Phenolic compounds and antioxidant activity of blueberry cultivars grown in Brazil. *Food Sci Technol.* 2011;31(4):911–917.