

Contenido de silimarina en *Silybum marianum* (L.) Gaertner de la región de Ayacucho

Silymarin Content in *Silybum Marianum* (L.) Gaertner from the Ayacucho Region

Marco Rolando Aronés-Jara¹ <https://orcid.org/0000-0001-5669-8776>

Edgar Cárdenas-Landeo¹ <https://orcid.org/0000-0003-2586-182X>

José Alejandro Yarlequé Mujica¹ <https://orcid.org/0000-0002-5172-1276>

Juan Clímaco Paniagua-Segovia¹ <https://orcid.org/0000-0002-4929-5001>

Kirianova Godoy Bautista¹ <https://orcid.org/0000-0003-1269-3054>

Mónica Gómez-Quispe¹ <https://orcid.org/0000-0003-1611-6860>

Gaby Espinoza-Córdova^{2*} <https://orcid.org/0000-0002-6448-3190>

¹Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH), Facultad de Ciencias de la Salud. Ayacucho, Perú.

²Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

Autor para la correspondencia: gaby.espinoza.c@upch.pe

RESUMEN

Introducción: *Silybum marianum* es una especie vegetal cuyos frutos contienen silimarina, se utiliza principalmente para trastornos hepáticos y cuya composición de flavonolignanos varía según las condiciones edafoclimáticas.

Objetivo: Determinar el contenido de silimarina en frutos de poblaciones de *Silybum marianum* que crecen en la región de Ayacucho.

Métodos: Las muestras de *Silybum marianum* se recolectaron en los distritos de Socos, Quinua y Acos Vinchos, provincia de Huamanga, región Ayacucho. El

extracto seco de sus frutos se obtuvo mediante extracción acelerada utilizando acetona como solvente. La silimarina fue identificada mediante espectrofotometría UV-VIS, espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier y cromatografía líquida de alta resolución. La cuantificación de silimarina se llevó a cabo mediante espectrofotometría, el contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu, el contenido de flavonoides se evaluó mediante el método de tricloruro de aluminio, y su actividad antioxidante se midió utilizando el método del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo.

Resultados: Se obtuvieron extractos secos de color amarillo de aspecto cristalino. La silimarina se identificó a una longitud de onda de 288 nm, con un análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier que mostró similitudes superiores al 70 %. El extracto proveniente de Acos Vinchos presentó el mayor contenido de silimarina ($75,2 \pm 1,9$ %), mientras que el de Quinoa destacó por su mayor contenido de fenoles totales ($60,6 \pm 0,2$ mgGAE/g) y flavonoides (16,7 mgRUE/g).

La actividad antioxidante de los extractos mostró una correlación directa con el contenido de compuestos fenólicos ($r = 0,963$). Además, se identificaron los flavonolignanos isosilicristina, silicristina, silidianina, silibina A, silibina B, isosilibina A e isosilibina B.

Conclusiones: El estudio confirmó que el contenido de silimarina y la actividad antioxidante en los frutos de *Silybum marianum* presentan una variabilidad significativa según su procedencia dentro de la región de Ayacucho.

Palabras clave. silimarina; flavonolignanos; actividad antioxidante; *Silybum marianum*.

ABSTRACT

Introduction: *Silybum marianum* is a plant species whose fruits contain silymarin, mainly used for liver disorders and whose flavonolignan composition varies according to soil and climatic conditions.

Objective: To determine the silymarin content in fruits of *Silybum marianum* populations growing in the Ayacucho region.

Methods: Samples of *Silybum marianum* were collected in the districts of Socos, Quinoa and Acos Vinchos, province of Huamanga, Ayacucho region. The dry extract of its fruits was obtained by accelerated extraction using acetone as solvent. Silymarin was identified by UV-VIS spectrophotometry, Fourier transform infrared spectroscopy and high-performance liquid chromatography.

Silymarin quantification was carried out by spectrophotometry, total phenol content was determined by the Folin-Ciocalteu method, flavonoid content was evaluated by the aluminium trichloride method, and antioxidant activity was measured using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method.

Results: Yellow dry extracts of crystalline appearance were obtained. Silymarin was identified at a wavelength of 288 nm, with Fourier transform infrared spectroscopy analysis showing similarities higher than 70 %.

The extract from Acos Vinchos had the highest silymarin content (75.2 ± 1.9 %), while that from Quinoa was notable for its higher content of total phenols (60.6 ± 0.2 mgGAE/g) and flavonoids (16.7 mgRUE/g).

The antioxidant activity of the extracts showed a direct correlation with the content of phenolic compounds ($r = 0.963$). In addition, the flavonolignans isosilicristin, silicristin, silydianin, silybin A, silybin B, isosilybin A and isosilybin B were identified.

Conclusions: The study confirmed that silymarin content and antioxidant activity in *Silybum marianum* fruits show significant variability according to their origin within the Ayacucho region.

Keywords: silymarin; flavonolignans; antioxidant activity; *Silybum marianum*.

Recibido: 12/08/2024

Aceptado: 23/01/2025

Introducción

Silybum marianum (L.) Gaertner, conocido como cardo mariano, es una planta medicinal utilizada tradicionalmente para tratar trastornos hepáticos y enfermedades de la vesícula biliar.⁽¹⁾ Su principal compuesto bioactivo es la silimarina, una mezcla de flavonolignanos (silibina, silicristina y silidianina) localizados predominantemente en el tegumento del fruto.⁽²⁾ Compuestos que han demostrado propiedades antihepatotóxicas, antioxidantes, antiinflamatorias, antialérgicas y antitumorales.^(2,3) Adicionalmente, los frutos contienen flavonoides (taxifolina, quercetina y apigenina) que contribuyen a su actividad biológica.⁽²⁾

La composición de silimarina varía según factores edafoclimáticos, estado de maduración de los frutos, condiciones de estrés hídrico y procesamiento.^(4;5) Estas variaciones pueden influir significativamente en la actividad farmacológica, por lo que es fundamental identificar y cuantificar sus componentes para garantizar la eficacia y seguridad de los productos derivados.⁽⁶⁾ En Europa, el uso de extractos con al menos 70 % de silimarina ha sido aprobado para el tratamiento de daños hepáticos de etiología tóxica y como coadyuvante en cirrosis y hepatitis crónica inducida.⁽²⁾

En Perú, *Silybum marianum* crece de manera silvestre en regiones como Cajamarca, La Libertad, Junín, Pasco, Puno y Ayacucho, adaptándose a altitudes de 2000 - 4000 msnm.^(7,8) En Ayacucho, la planta, conocida localmente como "eskarsina" o "isqana" se encuentra en terrenos baldíos y bordes de carreteras, siendo utilizada como forraje para ganado. Aunque sus hojas son empleadas en infusiones para problemas del corazón, el uso terapéutico de las semillas es poco conocido.⁽⁷⁾

Pese a la presencia de *Silybum marianum* en el país, las investigaciones sobre su contenido y composición de flavonolignanos son escasas. Dado el interés farmacológico de la silimarina como protector hepático y su creciente comercialización en diferentes formas farmacéuticas es prioritario desarrollar estudios que aprovechen esta especie como materia prima medicinal.⁽⁹⁾

En este contexto, la investigación tuvo como objetivo determinar el contenido de silimarina en frutos de poblaciones de *Silybum marianum* que crecen en la región de Ayacucho, Perú.

Métodos

El estudio se realizó en los laboratorios del Centro de Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH) de Ayacucho, Perú.

Los frutos provenientes de los distritos de Socos, Quinoa y Acos Vinchos, provincia de Huamanga, región Ayacucho fueron recolectadas durante el mes de septiembre. La autenticación botánica de *Silybum marianum* (L.) Gaertner fue realizada por la bióloga Laura Aucasime Medina, especialista en taxonomía y sistemática de plantas. Los frutos se separaron de forma manual de los capítulos y se liberaron del pappus. Se examinó el color y se determinó las dimensiones del fruto usando un vernier digital.

Extracción de silimarina

La extracción de silimarina se realizó por el método de extracción acelerada con solventes (ASE) utilizando el instrumento Dionex ASE 150 (Dionex Corporation). Para ello, 2 g de frutos secos y molidos se colocaron en una celda de extracción de acero inoxidable de 10 mL (provisto de un filtro) y se procedió al desengrasado con n-hexano a 50 °C. Luego se procedió a la extracción con acetona a 70 °C. Las condiciones de extracción del ASE fueron 2 ciclos estáticos, 5 min de tiempo estático, volumen de enjuague de 66 % y un tiempo de purga de 160 min. El extracto líquido obtenido se concentró en un rotavapor y el solvente residual se eliminó en una estufa a 40 °C por 30 min. Se obtuvo extractos de color amarillo anaranjado y consistencia de semiblanda a seca.⁽⁹⁾

Análisis del contenido de silimarina

Identificación en el ultravioleta

Se transfirió 25 mg de estándar de referencia de silimarina a un matraz volumétrico de 10 mL, al que se le adicionó 4 mL de metanol que se calentó a 60 °C en baño maría hasta que se disolvió y luego se completó a volumen con metanol. Luego se transfirieron 200 µL de la solución en un matraz volumétrico de 10 mL y se diluyó a volumen con metanol. Los extractos de *Silybum marianum* se procesaron de acuerdo con lo descrito para el estándar. Se examinó espectrofotométricamente la solución del estándar y de los extractos en celdas de 1 mL y se realizó un barrido espectral de 200 a 400 nm en un espectrofotómetro Vis/UV-Vis GENESYS™ 150. Se registró y comparó los espectros obtenidos concomitantemente para la solución estándar y de las soluciones del extracto.⁽⁶⁾

Identificación en el infrarrojo

Durante la identificación en el infrarrojo (IR) se midieron aproximadamente 5 mg de extracto seco de *Silybum marianum* que se mezcló con 250 mg de bromuro de potasio. Se registraron los espectros del extracto y del estándar en las mismas condiciones de 3800 a 650 cm⁻¹ en un espectrofotómetro FT-IR Thermo Nicolet 10s.⁽¹⁰⁾

Valoración de silimarina

Se preparó una solución del extracto de *Silybum marianum* a concentración de 0,01 mg/mL. Para ello, se transfirió 5 mg de extracto seco a un matraz volumétrico de 10 mL, se adicionó 4 mL de metanol y se calentó a 60 °C en baño maría hasta disolver. Se enfrió y diluyó a volumen con metanol. Se transfirió 200 µL de esta solución a un matraz volumétrico de 10 mL y se diluyó a volumen con metanol. Se examinaron espectrofotométricamente las soluciones en celdas de 1 mL a una longitud de onda de 288 nm, utilizando metanol como blanco.⁽⁶⁾

Se calculó la cantidad de silimarina mediante la ecuación:

$$\text{Silimarina (\%)} = \frac{A_{mp} \times 10 \times 5 \times 10}{453,49 \times P_{mp}} \times 100 \quad (1)$$

En la cual:

- A_{mp} : absorbancia de la solución del extracto a 288 nm,
- P_{mp} : peso de la muestra en mg,
- 453,49: absortividad específica.

Análisis de flavonolignanos

El análisis de flavonolignanos se realizó por cromatografía líquida de alto rendimiento (UHPLC focused Dionex UltiMate 3000) utilizando una columna C18 de 250 mm x 4,6 mm (5 μ m). Se usó un detector UV-VIS con arreglo de diodos a 288 nm. La fase móvil consistió en una mezcla de ácido acético glacial 0,1 % y metanol en una de proporción de 53:46. La velocidad de flujo fue de 0,7 mL/min, volumen de inyección de 3 μ L, longitud de onda de 288 nm y temperatura de 20 °C. El análisis de los extractos de *Silybum marianum* se realizó concomitantemente a un estándar de silimarina. Se utilizó el software Chromeleon para adquirir, procesar y analizar datos cromatográficos.⁽⁶⁾

Contenido de fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales en los diferentes extractos se realizó usando el reactivo Folin-Ciocalteu (RFC) según lo descrito por Sousa⁽¹¹⁾ y otros. Se preparó una solución *stock* de ácido gálico 60 μ g/mL, a partir de la cual se obtuvieron soluciones estándar de 10, 20 y 40 μ g/mL en etanol al 50 %. Se midió una alícuota de 100 μ L de cada solución estándar y se adicionó 500 μ L de RFC (1:10) y 400 μ L de Na₂CO₃ 7,5 %. Después de 30 min se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific Genesys 10S.

Para la cuantificación de fenoles totales en los extractos, se preparó una solución de 320 μ g/mL del extracto en metanol por triplicado. Se midió 100 μ L de cada

solución de extracto y se adicionó 500 μL de RFC (1:10) y 400 μL de Na_2CO_3 7,5 %. Después de 30 min se midió la absorbancia a 765 nm. La concentración se calculó a partir de la curva patrón de ácido gálico ($y = 0,01x + 0,0129$; $R^2 = 0,9993$) y el contenido de fenoles totales fue expresado en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mgGAE/g)⁽¹¹⁾

Contenido de flavonoides

Para la cuantificación de flavonoides en los extractos secos se utilizó el reactivo de tricloruro de aluminio, según lo descrito por Barrón⁽¹²⁾ y otros. Se preparó una solución *stock* de estándar rutina 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en metanol. Se midieron alícuotas de 1 a 4 mL de esta solución *stock*, se adicionó 0,5 mL de AlCl_3 2 % y completó a volumen de 5,0 mL con metanol, y se obtuvo soluciones estándar de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Después de 30 min se midió la absorbancia a 415 nm.

Para la cuantificación de flavonoides se preparó una solución de 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ del extracto seco en etanol al 50 %, del cual se midió 2,0 mL y se adicionó 0,5 mL de AlCl_3 2 % y se completó a volumen de metanol por triplicado. Después de 30 min se midió la absorbancia a 415 nm. La concentración se calculó a partir de la curva patrón de rutina ($y = 0,0269x + 0,005$; $R^2 = 0,99996$) y el contenido de flavonoides fue expresado en miligramos equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (mgRUE/g).⁽¹²⁾

Determinación de la actividad antioxidante

Se utilizó el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) descrito por Sousa⁽¹¹⁾ y otros. Para la determinación de la actividad antioxidante se preparó una solución de extracto de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en metanol, a partir de la cual se prepararon diluciones de 25; 50; 100; 150; 200 y 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$, por triplicado. Se midieron alícuotas de 300 μL de cada dilución y se adicionó 2,7 mL de solución de DPPH (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en metanol). Después de 30 min se midió la absorbancia a 515 nm, calibrando el espectrofotómetro con metanol.⁽¹¹⁾

Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante para cada concentración según la ecuación 2:

$$AA(\%) = \left[\frac{A_c - (A_m - A_b)}{A_c} \right] \times 100 \quad (2)$$

En la cual:

- AA: actividad antioxidante,
- Ac: absorbancia del control (300 μ L metanol más 2,7 mL de solución de DPPH),
- Am: absorbancia de la muestra,
- Ab: absorbancia del blanco (300 μ L de extracto más 2,7 mL de metanol).

La concentración eficiente antioxidante (CE50) se determinó midiendo la concentración remanente de DPPH a partir de una curva estándar de DPPH en metanol de 1 a 40 μ g/mL ($y = 0,02794x - 0,001451$; $R^2 = 0,9989$). Se calculó la concentración eficiente antioxidante mediante la ecuación de la recta ($y = bx + a$) de la variación del porcentaje de DPPH en función de la concentración de las muestras, para lo cual se utilizó el *software* Excel. La actividad antioxidante se comparó con el estándar de silimarina ensayada a las mismas condiciones que el extracto.

Análisis de datos

Los resultados de silimarina, contenido de fenoles totales, flavonoides, actividad antioxidante y la concentración eficiente antioxidante corresponden a la media de tres repeticiones.

Para la comparación de medias se aplicó previamente la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene.

Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95 %, seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey con el software IBM SPSS Statistics 23.(13)

Resultados

Los frutos de *Silybum marianum* se recolectaron de los distritos de Socos, Quinua y Acos Vinchos provincia de Huamanga, región de Ayacucho en Perú (tabla 1).

Los especímenes de *Silybum marianum* recolectados de los tres lugares corresponden a la variedad vegetal púrpura. Las dimensiones de los frutos corresponden a la media de diez repeticiones.

Tabla 1- Muestras de *Silybum marianum* recolectadas en la región de Ayacucho, Perú

| <i>Silybum marianum</i> | | | Características del fruto | | |
|-------------------------|------------------------------|-----------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|
| Procedencia | Coordenadas | Variiedad | Color | Unidades por capítulo | Dimensión A, H, E (mm) |
| Socos | 13°13'28.7"S 74°16'54.7"W | Púrpura | Negro | 99 ± 15,7 | 2,9; 6,7; 1,5 |
| Quinua | 13°02'39.3"S 74°08'02.5"W | Púrpura | Negro | 95 ± 11,6 | 2,9; 6,9; 1,6 |
| Acos Vinchos | 13°06'31.7"S 74°06'15.2"W | Púrpura | Negro | 91 ± 12,3 | 2,6; 6,8; 1,4 |

Leyenda. A: ancho; H: altura; E: espesor.

Los frutos presentan un color negro, aunque también se encontraron colores marrones debido al estado de madurez (fig.1)

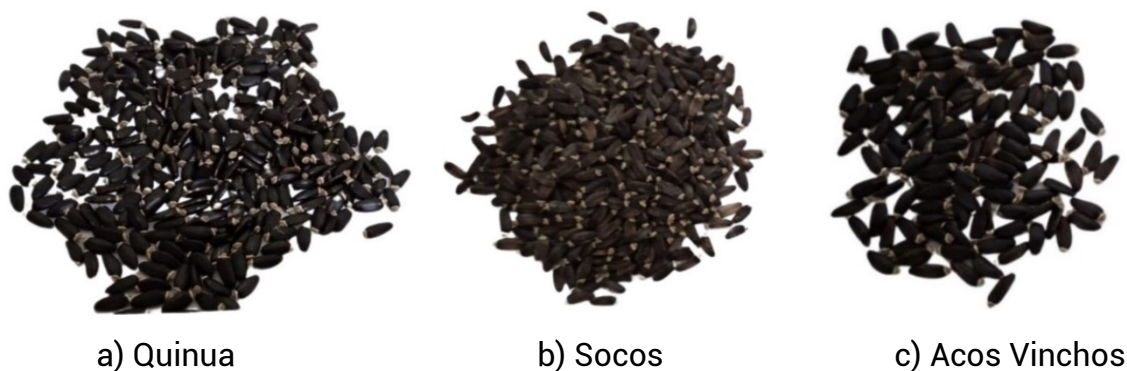


Fig. 1 - Frutos de *Silybum marianum* recolectadas en la región de Ayacucho, Perú.

En la identificación UV-VIS de la silimarina en los extractos secos se determinó concomitantemente a un estándar de silimarina (tabla 2).

Tabla 2 - Compuestos químicos identificados por espectroscopía FT-IR en frutos de poblaciones de *Silybum marianum* recolectadas en la región de Ayacucho, Perú

| N° | Índice | Nombre del compuesto | Similitud (%) | | | |
|----|--------|-----------------------------------|---------------|--------------|-------|--------|
| | | | Estándar | Acos Vinchos | Socos | Quinoa |
| 1 | 1047 | Grupo silimarina | 68,3 | 75,1 | 71,1 | 71,1 |
| 2 | 477 | Gel de aceite de linaza | 63,0 | 57,8 | 67,6 | 67,6 |
| 3 | 651 | Trioleato de sorbitán | 61,9 | 55,3 | 64,9 | 62,1 |
| 4 | 209 | Aceite de castor | 61,2 | 55,8 | 65,7 | 61,7 |
| 5 | 1612 | Aceite de castor | 61,2 | 55,9 | 65,6 | 61,8 |
| 6 | 1124 | Trioleato de sorbitán #3 | 60,8 | 54,4 | 65,3 | 61,3 |
| 7 | 1115 | Ácido graso y éster de alcohol #1 | 60,7 | 54,5 | - | 60,5 |
| 8 | 1613 | Aceite de maíz | 60,4 | 55,3 | 65,6 | 60,9 |
| 9 | 684 | Trioleato de sorbitán #2 | 60,3 | - | 65,3 | 61,1 |
| 10 | 1614 | Aceite de linaza | 60,3 | - | - | 60,9 |
| 11 | 53 | MTH-Histidina | - | 57,0 | - | - |
| 12 | 14 | Resina alquídica | - | 56,6 | - | - |
| 13 | 530 | Aceite de castor, dihidratado | - | - | 64,8 | - |
| 14 | 530 | Trioleato de sorbitán #1 | - | - | 64,7 | - |

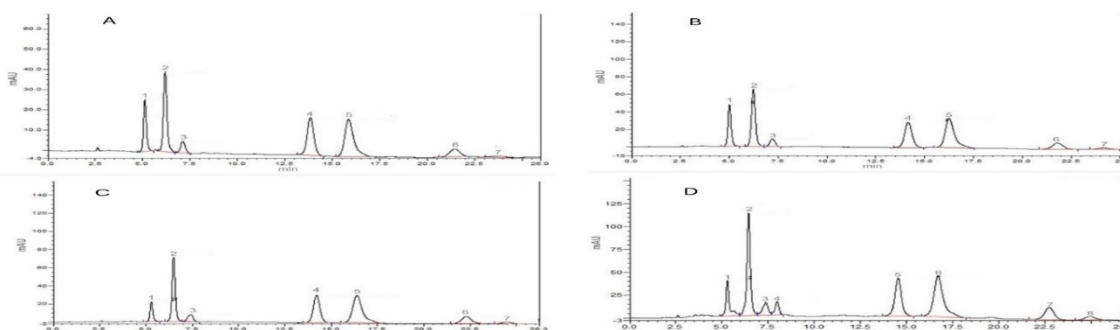
Los frutos de *Silybum marianum* fueron evaluados en razón a su contenido desilimarina, contenido de fenoles totales y flavonoides; así como, por su actividad antioxidante, comparados con el estándar de silimarina (tabla 3).

Tabla 3 - Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de frutos de poblaciones de *Silybum marianum* recolectadas en la región de Ayacucho, Perú

| Lugar | Silimarina | | Fenoles y flavonoides | | Actividad antioxidante | |
|-----------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| | Extracto (%) | Fruto (mg/g) | TPC (mgGAE/g) | TFC (mgRuE/g) | AA (%) | CE50 (µg/mL) |
| Socos | 65,1 ± 1,1 ^a | 25,8 ± 0,03 ^a | 299,4 ± 1,2 ^a | 50,3 ± 0,5 ^a | 15,8 ± 0,1 ^a | 736,8 ± 9,49 ^a |
| Quinua | 67,6 ± 0,7 ^a | 27,1 ± 0,02 ^b | 300,2 ± 6,7 ^a | 60,6 ± 0,2 ^b | 16,7 ± 0,2 ^b | 721,6 ± 7,89 ^b |
| Acos Vinchos | 75,2 ± 1,9 ^b | 29,8 ± 0,05 ^c | 265,4 ± 0,9 ^b | 49,3 ± 0,2 ^a | 13,1 ± 0,1 ^c | 931,8 ± 4,25 ^c |
| Estándar | 97,7 ± 0,5 ^c | - | 186,7 ± 1,5 ^c | 75,3 ± 0,1 ^c | 24,1 ± 0,2 ^d | 472,1 ± 4,81 ^d |

Leyenda. Letras (a, b, c y d) indican subconjuntos homogéneos de la prueba de Tukey al 95,0 % de nivel de confianza; TPC contenido de fenoles totales expresados como ácido gálico por gramo de extracto; TFC contenido de flavonoides expresados como rutina por gramo de extracto; AA (%) actividad antioxidante a la concentración de 250 µg/mL; CE50 concentración eficiente antioxidante.

Los extractos secos de los frutos maduros de *Silybum marianum* fueron analizados mediante método de cromatografía líquida de alta performance (fig. 2).



Leyenda: Procedencia: Socos (A), Acos Vinchos (B), Quinua (C). Estándar de silimarina (D). Picos de las muestras: Isosilicristina (1), Silicristina (2), Silidianina (3), Silibina A (4), Silibina B (5), Isosilibina A (6), Isosilibina B (7)

Fig. 2 - Cromatograma HPLC del análisis de los componentes de la silimarina en frutos de poblaciones de *Silybum marianum* recolectados en la región de Ayacucho, Perú.

Discusión

Las características de los frutos de *Silybum marianum* (tabla 1) y el color negro observado en el estudio se explica por el cambio natural que experimentan los frutos durante su maduración que los lleva de un color blanco cremoso a marrón claro o incluso negro dependiendo de las condiciones específicas de maduración y almacenamiento. Durante este proceso, la planta deposita pigmentos en la capa subepidérmica del pericarpio y está influenciado por factores externos.⁽¹⁴⁾

Además, se ha informado que el contenido de silimarina aumenta de manera concomitante con la etapa de maduración de los frutos⁽¹⁵⁾ y al respecto existen dos procesos metabólicos clave asociados con la maduración de los frutos, el depósito de pigmentos, que genera cambios en el color del pericarpio y la formación y/o depósito de silimarina.⁽¹⁴⁾ Estos procesos tienen implicaciones potenciales tanto para la selección de frutos destinados a la producción industrial de silimarina como para los consumidores de frutos enteros. En general, los frutos disponibles comercialmente presentan una amplia gama de colores en el pericarpio reflejando sus diferentes etapas de maduración.

En relación con la extracción de la silimarina, la Farmacopea Europea refiere que el extracto de frutos de *Silybum marianum* se producen utilizando acetato de etilo, acetona o mezcla de acetona con agua, etanol o una mezcla hidroalcohólica y metanol o mezcla de metanol con agua. Sin embargo, los métodos de extracción como la maceración y/o extracción por Soxhlet consumen mucho tiempo, utilizan grandes cantidades de solventes, generan residuos de disolvente y lo más crítico ocasionan la pérdida de importantes cantidades de silimarina durante el proceso de desgrasado.

Durante el uso de extracción acelerada por solventes en la investigación se redujo el tiempo y los requerimientos de solvente y se usó temperatura controlada, lo que permitió una combinación de extracción estática y dinámica; así como el uso de disolventes a presión elevada, para la extracción con solventes a temperaturas por

encima de sus puntos de ebullición manteniéndolos en su estado líquido. De igual manera, se logró la difusión mejorada del analito a través de las paredes celulares, lo que disminuye la viscosidad del disolvente y la tensión superficial. En el estudio, para la extracción de la silimarina se utilizó acetona como disolvente de extracción, al estar informado que produce el mayor rendimiento de silimarina.⁽¹⁶⁾

Una vez obtenidos los extractos, se procedió a su caracterización. En primer lugar, la silimarina presente en los extractos secos fue identificada mediante espectrofotometría UV-VIS, empleando un estándar de silimarina como referencia. Del cual, se constató que las longitudes de onda de máxima absorbancia de los extractos coincidieron con las del estándar, presentando un pico máximo a 288 nm. Asimismo, el análisis de la literatura⁽¹⁷⁾ confirmó que las longitudes de onda óptimas para la cuantificación de la silimarina se encuentran en el rango de 286 a 288 nm.

Este método espectrofotométrico mide la interacción entre una radiación electromagnética y las moléculas o átomos característicos de una sustancia química, la cual permite su identificación.⁽⁶⁾ Aunque los espectros UV de las sustancias no tienen un alto grado de especificidad; sin embargo, son muy apropiados para realizar valoraciones cuantitativas y, en el caso de muchas sustancias, son útiles como medios adicionales de identificación.⁽⁶⁾

La identificación de silimarina en los extractos secos de los frutos de *Silybum marianum* también se realizó por espectroscopía FT-IR, en la que se evidenció la correspondencia de los espectros obtenidos por los extractos con el estándar de silimarina confirmando así la presencia de este compuesto en las tres muestras recolectadas. Al respecto, hay un creciente interés en el uso de la espectroscopia del IR cercano en análisis farmacéuticos. La zona del infrarrojo cercano resulta particularmente idónea para identificar -OH y -NH, -OH en presencia de aminas, alcoholes en hidrocarburos y aminas primarias y secundarias en presencia de aminas terciarias.⁽⁶⁾ Cada compuesto químico posee un espectro infrarrojo (IR) característico que lo distingue, excepto en el caso de los isómeros ópticos, los cuales comparten espectros idénticos. No obstante, en ciertas situaciones, el

fenómeno del polimorfismo puede provocar variaciones en el espectro IR de un compuesto en su forma sólida.

Al realizar la comparación de los espectros con el *software* Omnic, los compuestos identificados en los extractos y el estándar de silimarina fueron el grupo silimarina, el gel de aceite de linaza, el trioleato de sorbitán, el aceite de castor, el aceite de maíz, el aceite de linaza, los ácidos grasos y el éster de alcohol. Los compuestos químicos del extracto de frutos recolectados en Quinoa coinciden en su totalidad con el estándar. Comparando el porcentaje de similitud del espectro de la base de datos del Omnic con el espectro de las muestras, el extracto obtenido de la muestra recolectada de Acos Vinchos presentó mayor porcentaje de similitud para el grupo silimarina con un 75,1 % (tabla 2). Respecto a la presencia de ácidos grasos en la investigación de *Stoff*⁽¹⁸⁾ y otros también se reportó la presencia de ácidos grasos insaturados, tales como, el ácido oleico, linoleico y palmítico en los frutos del *Silybum marianum* siendo así el otro grupo de metabolitos relevantes presentes en la planta.

Una vez realizada la identificación de silimarina en los extractos de los frutos de *Silybum marianum* se procedió a la cuantificación del contenido de silimarina, del contenido de fenoles totales y de flavonoides; así como, por su actividad antioxidante comparados con el estándar de silimarina (tabla 3). Del cual, se evidenció que el extracto de frutos recolectados en Acos Vinchos presentó el mayor contenido de silimarina, con un valor de $75,2 \pm 1,9$ %. Sin embargo, este valor fue estadísticamente inferior al del estándar de silimarina ($p < 0,05$).

Al respecto, los extractos de silimarina en general se estandarizan a una concentración de 70-80 % de flavonolignanos. Asimismo, el contenido de silimarina en frutos secos (mg/g) osciló entre 25 y 30 mg/g, superando el valor de $21,92 \pm 0,97$ mg/g reportado en frutos de *Silybum marianum* cultivados en Egipto.⁽³⁾ Sin embargo, este contenido fue inferior al registrado en el quimiotipo A de *Silybum marianum* cultivado en la región de Italia, el que alcanzó un valor de 40,27 mg/g en frutos secos.⁽¹⁹⁾

En cuanto al contenido de fenoles totales, todos los extractos mostraron valores estadísticamente superiores al estándar de silimarina ($p < 0,05$). No obstante, el contenido de flavonoides fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en el estándar de silimarina y se atribuye a su mayor pureza (tabla 3).

En relación con la actividad antioxidante de los extractos se observó una correlación directa con su contenido de flavonoides. Esto evidencia que el estándar de silimarina, al poseer un mayor contenido de flavonoides exhibe una actividad antioxidante superior ($p < 0,05$). Al respecto, el uso de extractos estandarizados de drogas vegetales tiene una ventaja superlativa respecto a los compuestos químicos aislados, ya que los extractos contienen un mayor número de metabolitos que ejercen un sinergismo farmacológico y además proporcionan beneficios terapéuticos adicionales.⁽²⁾

La caracterización del extracto seco de frutos maduros de *Silybum marianum* fue complementado mediante el análisis de cromatografía líquida de alta resolución, lo que permitió identificar el perfil de flavonolignanos comparándolo con el estándar de silimarina (fig. 2). En los extractos de frutos provenientes de Socos, Quinoa y Acos Vinchos ubicados en la región de Ayacucho se detectaron siete flavonolignanos. Según el análisis comparativo de los cromatogramas obtenidos y la información reportada en la literatura, los compuestos identificados serían isosilicristina, silicristina, silidianina, silibina A, silibina B, isosilibina A e isosilibina B. Al respecto, investigaciones como las de Wang⁽²⁰⁾ y otros han confirmado la presencia de compuestos (silibina y silicristina), pertenecientes al grupo de los flavonolignanos. Sin embargo, esta identificación preliminar debería ser confirmada mediante un análisis más detallado, como LC-MS/MS, para garantizar mayor precisión. La caracterización del perfil de flavonolignanos en frutos de *Silybum marianum* es crucial, ya que actualmente la silimarina se emplea ampliamente como extracto estandarizado.^(2,6)

La relevancia de este estudio radica en que la composición química de las plantas medicinales como *Silybum marianum* está estrechamente influenciada por las condiciones geográficas. Además, la temperatura se destaca como el factor

climático más importante, ya que cada especie medicinal se adapta a su hábitat específico; no obstante, muchas plantas tienen la capacidad de desarrollarse en un amplio rango de temperaturas. Por otro lado, la lluvia afecta la humedad y la capacidad de retención de agua del suelo, factores esenciales para el desarrollo vegetal.⁽³⁾ También existe una relación directamente proporcional entre la intensidad de la radiación solar y la producción de compuestos fenólicos, lo cual es clave para la actividad antioxidante de muchas especies.⁽³⁾ La radiación ultravioleta (UV) en particular estimula el incremento en el contenido de flavonoides, alcaloides, antocianinas, carotenoides y cumarinas actuando como un mecanismo de defensa contra el daño oxidativo. Por último, el suelo desempeña un papel crucial no solo como soporte mecánico, sino también como fuente de agua y nutrientes para la planta. Mientras que la altitud está directamente relacionada con el desarrollo y calidad de las plantas e influye significativamente en su composición química.

Además, las variaciones en el contenido de silimarina según su procedencia están relacionadas con las condiciones agroclimáticas. Las semillas de cardo mariano presentan mayores contenidos de silimarina en comparación con las raíces y las hojas y son la parte más utilizada e importante en la producción de la industria medicinal.⁽²¹⁾ Existen diferentes quimiotipos de *Silybum marianum* con variaciones en la composición de flavonolignanos, al haberse identificado quimiotipos estables con perfiles significativamente diferentes.⁽¹⁴⁾

El contenido de silimarina en los frutos de Milk Thistle (MT) varía según el cultivar, la ubicación geográfica y las condiciones agronómicas reportándose una variabilidad desde 0,62 % hasta más del 6 % en algunos ecotipos.⁽¹⁵⁾ En Italia, las poblaciones silvestres muestran una variación continua en el contenido de silidianina entre 1-70 %, con distribuciones regionales específicas.⁽²²⁾ Además, la suplementación del suelo con ácido ascórbico influye en el crecimiento y los parámetros bioquímicos al mejorar sus atributos bajo condiciones de estrés por salinidad. Algunos ecotipos mostraron mayor tolerancia y mayor contenido de fenoles y flavonoides.⁽²³⁾

Las variaciones en el contenido de silimarina también son causadas por factores ambientales y genéticos. Las condiciones ambientales específicas, como el tipo de suelo, la disponibilidad de nutrientes, el clima y las prácticas de cultivo influyen significativamente en la variabilidad del contenido de silimarina. Mientras que los análisis cuantitativos mostraron que las cantidades de silimarina varían según factores ambientales como el año y la región con ciertos genotipos mostrando mayor adaptación y acumulación de silidianina bajo condiciones ambientales específicas.⁽²⁴⁾ La existencia de diferentes quimiotipos de *Silybum marianum*, que presentan diferencias fenotípicas y químicas, también afecta la composición de silimarina en los frutos.⁽¹⁴⁾

Los hallazgos de la investigación sugieren que una mayor producción de silimarina depende del lugar de procedencia al estar condicionado con el tipo de suelo, los ciclos de lluvia y sequía y demás condiciones medioambientales. *Silybum marianum* es una especie de interesante distribución en la región de Ayacucho, Perú, en la cual se puede considerar como un potencial terapéutico y económico, pese a que la población solo conoce el uso tradicional de sus hojas, más no la de sus frutos.

Además, la importancia de encontrar todo el complejo de silimarina radica en sus aplicaciones medicinales, especialmente en el tratamiento de enfermedades hepáticas. Este complejo comprende varios componentes (silibina, silicristina, silidianina e isosilibina) que juntos ofrecen beneficios terapéuticos significativos, lo que justifica su estudio y producción a escala comercial.⁽²¹⁾

Por lo que identificar y cuantificar todos los componentes del complejo de silimarina es crucial para garantizar la autenticidad y calidad de los productos derivados de Milk Thistle (MT), en los que los flavonolignanos y el flavonoide taxifolina son utilizados como marcadores en monografías específicas, asegurando la eficacia y seguridad de los suplementos alimenticios basados en MT.⁽²⁵⁾

El estudio del complejo de silimarina es vital para programas de mejoramiento de *Silybum marianum* y para comprender mejor su vía biosintética evaluando la

variabilidad en poblaciones silvestres,⁽²²⁾ en el que el estudio de diferentes quimiotipos de *Silybum marianum* y sus perfiles de silimarina es esencial para optimizar su uso medicinal y farmacéutico. Por ejemplo, el quimiotipo A tiene alto contenido de silicristina, sibilina A y silibilina B, mientras que el quimiotipo B tiene un alto contenido de silidianina, representando aproximadamente el 75 % del total de silimarina. Estas diferencias pueden influir significativamente en las propiedades terapéuticas y aplicaciones comerciales de los extractos de silimarina.⁽²²⁾ También, la identificación y análisis de todo el complejo de silimarina ayuda a establecer planes que permitan el desarrollo de cultivos con altos rendimientos, a fin de mejorar la producción de cultivos con propiedades medicinales óptimas y aseguren suministros constantes y homogéneos de compuestos farmacéuticos derivados de *Silybum marianum*.^(24,26)

Los frutos de *Silybum marianum* provenientes de los tres distritos analizados contienen la misma variedad de flavonolignanos; sin embargo, la cantidad de silimarina varía significativamente según la procedencia. Esta variabilidad en el contenido de silimarina se refleja directamente en la actividad antioxidante de los extractos, evidenciando la influencia de las condiciones agroclimáticas sobre la composición química y funcional de los frutos. Estos hallazgos destacan la importancia de considerar la procedencia de los frutos al seleccionar material vegetal para fines farmacéuticos o industriales, especialmente en la producción de extractos estandarizados con altos niveles de actividad antioxidante.

Por lo que se puede concluir que el estudio confirmó que el contenido de silimarina y la actividad antioxidante en los frutos de *Silybum marianum* presentan una variabilidad significativa según su procedencia dentro de la región de Ayacucho.

Agradecimientos

A los laboratorios del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela Profesional de

Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Perú.

Referencias bibliográficas

1. Marmouzi I, Bouyahya A, Ezzat SM, El Jemli M, Kharbach M. The food plant *Silybum marianum* (L.) Gaertn.: Phytochemistry, Ethnopharmacology and clinical evidence. J Ethnopharmacol. 2021;265:113303. DOI: [10.1016/j.jep.2020.113303](https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113303)
2. Vanaclocha B, Cañigueral S. (eds). Fitoterapia, Vademécum de Prescripción. 5ª ed. Barcelona: Elsevier, 2019.[acceso 19/03/2025] Disponible en: <https://n9.cl/z3te1f>
3. Abou SF, Chen SN, Pauli GF. Silymarin content in *Silybum marianum* populations growing in Egypt. Ind Crops Prod. 2016;83:729-37. DOI: [10.1016/j.indcrop.2015.12.012](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.012)
4. Chambers CS, Holečková V, Petrásková L, Biedermann D, Valentová K, Buchta M, et al. The silymarin composition and why does it matter??? Food Res Int. 2017;100(Pt 3):339-53. DOI: [10.1016/j.foodres.2017.07.017](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.017)
5. Elwekeel A, Elfishawy A, AbouZid S. Silymarin content in *Silybum marianum* fruits at different maturity stages. Journal of Medicinal Plants Research. 2013;7(23):1665-9. DOI: [10.5897/JMPR12.0743](https://doi.org/10.5897/JMPR12.0743)
6. d' Europa C. European pharmacopoeia. Strasbourg: Council of Europe; 2019. Strasbourg Cedex, France: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM); 2019 [acceso 19/03/2025] Disponible en: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia>
7. Mostacero J. Plantas medicinales del Perú. Rev. MANGLAR 2029;16(2) DOI: [10.17268/manglar.2019.017](https://doi.org/10.17268/manglar.2019.017)
8. Hurtado J, Albán J. Conocimiento tradicional de la flora silvestre en las comunidades campesinas del Santuario Histórico de la Pampa de Ayacucho (Quinua, Ayacucho, Perú). Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat. 2018 [acceso

19/03/2025];17(3):286–301 Disponible en: https://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo_5_-_1432_-_286_-_301_0.pdf

9. Sarker SD, Nahar L. Natural Products Isolation. Totowa, NJ: Humana Press; 2012. [acceso 19/03/2025] Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-61779-624-1>

10. Sarker, SD, Nahar L. Natural Products Isolation. 3rd ed. Humana Press/Springer Verlag, USA (invitation from Professor J Walker, Series Ed). 2012 [acceso 19/03/2025] Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-61779-624-1>

11. Sousa CM de M, Silva HR, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, Da Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quim Nova. 2007;30(2):351–5. DOI:[10.1590/S0100-40422007000200021](https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021)

12. Barrón RM, Del García MR, Soto MR, Colinas T, Kite G. Flavonoides y actividad antioxidante de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. Revista Fitotécnica Mexicana. 2011 [acceso 19/03/2025];34(3):151. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802011000300005

13. Daniel WW, Cross CL. Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences. México: Wiley; 2018 [acceso 19/03/2025] Disponible en: <https://www.ege.fcen.uba.ar/wp-content/uploads/2014/05/Daniel-1995-Biostatistics.pdf>

14. Martinelli T, Baumann K, Börner A. Characterization and potential utilization of recently available milk thistle, *Silybum marianum* (L.) Gaertn., wild type and mutant accessions. Plant Genet Resour. 2021 [acceso 19/03/2025];19(5):411-8 Disponible en: <https://n9.cl/cmox4>

15. Raclariu AC, Socaciu C. Detecting and Profiling of Milk Thistle Metabolites in Food Supplements: A Safety-Oriented Approach by Advanced Analytics. Metabolites. 2023 [acceso 19/03/2025];13(3). Disponible en: <https://www.mdpi.com/2218-1989/13/3/440>

16. Wianowska D, Wiśniewski M. Simplified procedure of silymarin extraction from *Silybum marianum* L. Gaert. J Chrom Sc. 2015 [acceso 19/03/2025];53(2):366-72

Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24895445/>

17. Mayr S, Strasser S, Kirchler CG, Meischl F, Stuppner S, Beć KB, et al. Quantification of Silymarin in *Silybi mariani* fructus: Challenging the Analytical Performance of Benchtop vs. Handheld NIR Spectrometers on Whole Seeds. *Planta Med.* 2022;88(1):20-32. DOI: [10.1055/a-1326-2497](https://doi.org/10.1055/a-1326-2497)

18. Stolf AM, Cardoso CC, Acco A. Effects of Silymarin on Diabetes Mellitus Complications: A Review. *Phytother Res.* 2017 [acceso 19/03/2025];31(3):366-74
Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28124457/>

19. Martinelli T, Andrzejewska J, Salis M, Sulas L. Phenological growth stages of *Silybum marianum* according to the extended BBCH scale. *Annals of Applied Biology.* 2015 [acceso 19/03/2025];166(1):53-66. Disponible en:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/aab.12163>

20. Wang X, Zhang Z, Wu SC. Health Benefits of *Silybum marianum*: Phytochemistry, Pharmacology, and Applications. *J Agric Food Chem.* 2020 [acceso 19/03/2025];68(42):11644-64. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33045827>

21. Javeria M, Hussain K. Relationship between different agro-climatic conditions and silymarin production in wild milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaert.) in Pakistan. *Pak J Bot.* 2022 [acceso 19/03/2025];54(1) Disponible en: <https://www.pakbs.org/pjbot/papers/1641320802.pdf>

22. Martinelli T, Fulvio F, Pietrella M, Focacci M, Lauria M, Paris R. In *Silybum marianum* Italian wild populations the variability of silymarin profiles results from the combination of only two stable chemotypes. *Fitoterapia.* 2021 [acceso 19/03/2025];148:104797 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33271258/>

23. Zahra N, Wahid A, Hafeez MB, Alyemini MN, Shah T, Ahmad P. Plant growth promoters mediated quality and yield attributes of milk thistle (*Silybum marianum* L.) ecotypes under salinity stress. *Sci Rep.* 2021 [acceso 19/03/2025];11(1):23200. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34853350/>

24. Shim J, Cho H, Sung JS, Yoo E, Chin JH, Lee S. Agricultural phenotype and silymarin content variations of cultivated milk thistle in Korea. *Hortic Environ Biotechnol.* 2024 [acceso 19/03/2025];65:891-901 Disponible en: <https://scholarworks.bwise.kr/cau/handle/2019.sw.cau/73704>
25. Raclariu AC, Socaciu C. Detecting and Profiling of Milk Thistle Metabolites in Food Supplements: A Safety-Oriented Approach by Advanced Analytics. *Metabolites.* 2023;13(3) Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36984880/>
26. Ledur PC, Santurio JM. Cytoprotective effects of curcumin and silymarin on PK-15 cells exposed to ochratoxin A, fumonisin B1 and deoxynivalenol. *Toxicon.* 2020 [acceso 19/03/2025];185:97–103 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32622693/>

Conflicto de Intereses

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Marco Rolando Aronés-Jara, Edgar Cárdenas-Landeo, José Alejandro Yarlequé Mujica, Juan Clímaco Paniagua-Segovia, Kirianova Godoy Bautista, Mónica Gómez-Quispe, Gaby Espinoza-Córdova.

Curación de datos. Marco Rolando Aronés-Jara, Edgar Cárdenas-Landeo, José Alejandro Yarlequé Mujica, Juan Clímaco Paniagua-Segovia, Kirianova Godoy Bautista, Mónica Gómez-Quispe, Gaby Espinoza-Córdova.

Análisis formal: Marco Rolando Aronés-Jara, Edgar Cárdenas-Landeo, José Alejandro Yarlequé Mujica, Juan Clímaco Paniagua-Segovia, Kirianova Godoy Bautista, Mónica Gómez-Quispe, Gaby Espinoza-Córdova.

Investigación: Marco Rolando Aronés-Jara, Edgar Cárdenas-Landeo, José Alejandro Yarlequé Mujica, Juan Clímaco Paniagua-Segovia, Kirianova Godoy Bautista, Mónica Gómez-Quispe, Gaby Espinoza-Córdova.

Metodología: Marco Rolando Aronés-Jara, Edgar Cárdenas-Landeo, José Alejandro Yarlequé Mujica, Juan Clímaco Paniagua-Segovia, Kirianova Godoy Bautista, Mónica Gómez-Quispe, Gaby Espinoza-Córdova.

Visualización: Marco Rolando Aronés-Jara, Edgar Cárdenas-Landeo, José Alejandro Yarlequé Mujica, Juan Clímaco Paniagua-Segovia, Kirianova Godoy Bautista, Mónica Gómez-Quispe, Gaby Espinoza-Córdova.

Redacción – borrador original: Marco Rolando Aronés-Jara, Edgar Cárdenas-Landeo, José Alejandro Yarlequé Mujica, Juan Clímaco Paniagua-Segovia, Kirianova Godoy Bautista, Mónica Gómez-Quispe, Gaby Espinoza-Córdova.

Redacción – revisión y edición: Marco Rolando Aronés-Jara, Edgar Cárdenas-Landeo, José Alejandro Yarlequé Mujica, Juan Clímaco Paniagua-Segovia, Kirianova Godoy Bautista, Mónica Gómez-Quispe, Gaby Espinoza-Córdova.

Financiamiento

Los miembros del equipo de investigación agradecen a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por el financiamiento de la investigación con recursos ordinarios (ExFedu) del presupuesto institucional en la modalidad de estímulo al investigador. Todos los recursos empleados, incluidos materiales y análisis, fueron provistos por los propios autores, sin apoyo financiero adicional.