

## Evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos de cuatro plantas medicinales

Arriaga Arana Emma Laura, Montero Matías Eva Daniela, Bautista Ramírez María Esther, Gómez y Gómez Yolanda de las Mercedes

Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología.  
Av. Acueducto s/n, Col. Barrio la Laguna Ticomán, México D.F. México, CP 07340.

Fecha de aceptación: 13 de agosto de 2015

Fecha de publicación: 23 de septiembre de 2015

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo es proporcionar evidencia, sobre la actividad antioxidante y la caracterización fitoquímica de *Polygonum aviculare*, *Cuphea aequipetala*, *Taxodium mucronatum* y *Gentiana spathacea* que pudiese servir como alternativa o auxiliar en el tratamiento algunas enfermedades. A los extractos de metanol, acetona y éter de petróleo de cada planta se les realizó el tamiz fitoquímico. La actividad antioxidante fue evaluada con el radical DPPH. Resultados: el tamiz fitoquímico dio positivo a flavonoides, alcaloides, saponinas, glicosidos cardiacos, esteroides, quinonas, azúcares reductores, taninos y cumarinas. La mayor actividad antioxidante la presenta la flor de *Cuphea aequipetala* con 0.678 TEAC (mM de equivalente de Trolox/gr de muestra), *Taxodium mucronatum*, hoja de *Cuphea aequipetala* y flor de *Polygonum aviculare*, presentaron; 0.602 TEAC, 0.602 TEAC y 0.562 TEAC, respectivamente, todas con el extracto por acetona; mientras que *Gentiana spathacea* Kunth y la hoja de *Polygonum aviculare*, presentaron una actividad antioxidante de 0.458 TEAC y 0.462 TEAC, ambas con el extracto metanólico.

**Palabras clave:** análisis fitoquímico, DPPH, antioxidante.

### ABSTRACT

The aim of this work is to provide evidence, on the antioxidant activity and the characterization phytochemical of *Polygonum aviculare*, *Cuphea aequipetala*, *Taxodium mucronatum* and *Gentiana spathacea*, that could serve like alternative or auxiliary in the treatment some diseases. Method: to the extracts of methanol, acetone and ether of oil of flower and leaf of every plant, we did the phytochemical analysis. The radical DPPH was used for the evaluation of the antioxidant activity of the extracts. Phytochemical analysis of four plants gave positive to flavonoides, alkaloids, saponinas, glicosidos cardiac, steroids, quinonas, sweeten reducers, tannins and cumarinas. The major antioxidant activity presents the flower of *Cuphea aequipetala* Cav with 0.678 TEAC (mM of Trolox/gr's equivalent of sample), *Taxodium mucronatum*, leaf of *Cuphea aequipetala* and flower of *Polygonum aviculare*, they have; 0.602 TEAC, 0.602 TEAC and 0.562 TEAC, respectively, all with the extract for acetone; whereas *Gentiana spathacea* and the leaf of *Polygonum aviculare*, they showed an antioxidant activity of 0.458 TEAC and 0.462 TEAC, both with the extract metanolico

**Key words:** phytochemical analysis, DPPH, Antioxidant.

## INTRODUCCIÓN

México tiene una gran herencia cultural en el uso de hierbas aromáticas y medicinales para tratar diferentes padecimientos, la cual se inició varios siglos antes de la conquista. Se han identificado hasta 5,000 especies que tienen aplicaciones curativas, las cuales son comúnmente utilizadas por las de 60 grupos étnicos de México (González-Stuart y Rivera, 2009).

Especies reactivas del oxígeno (ERO) es el término que se aplica colectivamente a las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes y/o son fácilmente convertidos a radicales. Los radicales libres y el conjunto de especies reactivas que se les asocia tienen un papel central en el equilibrio homeostático, que es el normal funcionamiento de los mecanismos de regulación que conservan en estado normal fisiológico de los organismos. Cuando el aumento del contenido intracelular de ERO sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce estrés oxidativo a través del cual se induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El estrés oxidativo se presenta en diversos estados patológicos en los cuales se altera la funcionalidad celular, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer (Gutteridge y Halliwell, 1999).

En la medicina popular se utiliza un extracto acuoso de plantas para el tratamiento de diversas enfermedades como la diabetes, el cáncer, los problemas inflamatorios, las infecciones bacterianas, y la creencia generalizada es que tiene efectos benéficos.

La OMS estima que más del 70% de la población mundial tiene a recurrir a la medicina tradicional para mejorar su calidad de vida. Pese a que más de 1200 plantas en el mundo son empleadas en el control empírico de diversas enfermedades, la gran mayoría de plantas medicinales no han sido investigadas farmacológicamente. El **objetivo** de este trabajo es proporcionar evidencia, sobre la actividad antioxidante y la caracterización fitoquímica de *Polygonum aviculare*, *Cuphea aequipetala*, *Taxodium mucronatum* y *Gentiana spathacea Kunth* que pudiese servir como alternativa o auxiliar en el tratamiento de enfermedades crónico degenerativas.

## METODOLOGÍA

La muestra de *Polygonum aviculare* (Sanginaria), *Cuphea aequipetala*, *Taxodium mucronatum* y *Gentiana spathacea Kunth* se obtuvo del mercado de Sonora D.F., la hoja y flores de cada planta se secaron durante 72 h a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , una vez secas se maceraron en un mortero, se trabajó con 3 diferentes solventes (metanol 90%, acetona 100% y *Polygonum aviculare*, *Cuphea aequipetala*, *Taxodium mucronatum* y *Gentiana spathacea Kunth* éter de petróleo 100%), las muestras de 4 g se disolvieron en 20 mL de cada solvente, se sonico durante 15 minutos, se filtró y se concentraron en un rotavapor. Se realizó el **tamiz fitoquímico** del extracto metanólico, de acetona y éter de petróleo. La identificación de los principales grupos de metabolitos secundarios en cada extracto se realizó de la siguiente manera: alcaloides con reactivo Dragendorff, para flavonoides con reacción de Shinoda e Hidróxido de sodio al 10%, la determinación de Glucósidos Cianógenos con reactivo de Grignard, Azúcares Reductores con reactivos de Fehling y Benedict, la determinación de saponinas se realizó con la prueba de altura y estabilidad y reacciones de Lieberman Bouchard y Rosenthaler, se utilizó la reacción de gelatina, cloruro férrico y ferrocianuro de potasio para la determinación de Taninos.

Determinación de quinonas con reacción de hidróxido de amonio, ácido sulfúrico y reacción de Börntrager, mientras que para Cumarinas con reacción de Erlich y Reacción con hidróxido de amonio, la determinación de glicósidos cardíacos se llevó a cabo con la reacción de Legal y reacción de Baljet, la reacción Hidroximato férrico se utilizó para determinar Sesquiterpenlactonas, para fenoles se utilizó la reacción de cloruro férrico y la prueba de Lieberman-Buchard para determinar esteroides.

Para evaluar actividad antioxidante se utilizó el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), el cual determina actividades de captura de material radicalario, en presencia de una sustancia antioxidante, midiendo el potencial de inactivación de dicho radical en medio acuoso (Hseu y col., 2008). Se toman 2mL una solución  $6 \times 10^{-5} \text{M}$  de DPPH en metanol y 50  $\mu\text{L}$  del extracto a estudiar, se mezclan y se dejan reposar 30 minutos, posteriormente se determina la absorbancia a 517 nm y se calcula el % de captación. Se elaboró una curva con 0.06, 0.12, 0.25, 0.50, 1.0, y 1.2 mM/mL de Trolox, se toman 50  $\mu\text{L}$  de cada concentración y se añaden 2000  $\mu\text{L}$  del reactivo DPPH se mezcla y se lee a los 30 min. a 517 nm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis fitoquímico da a conocer la presencia o ausencia de metabolitos secundarios presentes en las plantas. En la tabla 1 se muestran los resultados del tamiz Fitoquímica realizado con los extractos de metanol, éter de petróleo y acetona de Sanguinaria hoja y flor.

**Tabla 1.** Metabolitos presentes en flor y hoja se sanguinaria, Hierba del cáncer, ahuehuete y hierba del hielo, con el extracto de metanol, éter de petróleo y acetona.

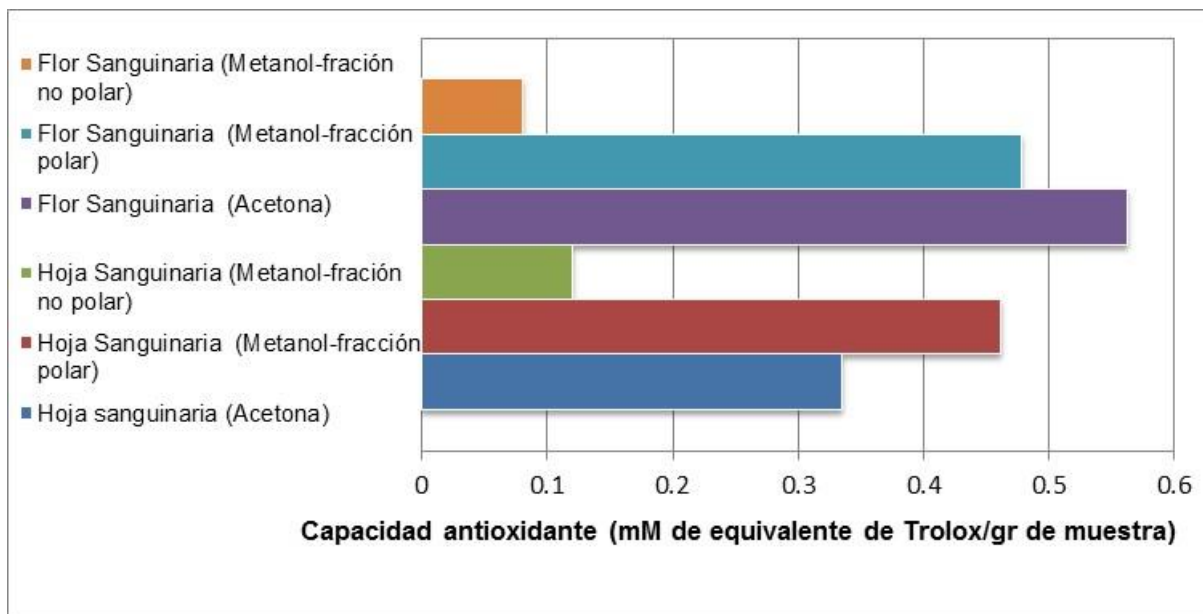
	<i>Polygonum aviculare</i> hoja	<i>Polygonum aviculare</i> flor	<i>Cuphea aequipetala</i> hoja	<i>Cuphea aequipetala</i> flor	<i>Taxadium mucronatum</i>	<i>Gentiana spathacea</i>
Alcaloides	+ F	+ F	+ F	+ F	+ F	+ F
Saponinas	+ ¥ F	+ ¥ F	+ ¥ F	+ ¥	+ F	+ ¥ F
Glicosidos cardiacos	+ ¥ F	+ ¥ F	+ ¥ F	+ ¥ F	+ ¥ F	+ ¥ F
Esteroides	+ F	+ ¥ F	¥ F	F	¥ F	¥ F
Quinonas	+	+ F	+ ¥	+ ¥ F	+ ¥	
Flavonoides		+		+ F	+ F	
Azuceres reductores	+	+	+	+ ¥	+ F	+
Taninos	+	+	+	+	+ F	+
Cumarinas	+	+ ¥			+ ¥	
Fenoles	+	+	+	+	+	+
Glucósidos Cianógenos		+ ¥		+ ¥	+	

Positivos al Extracto de metanol +; Extracto de éter de petróleo ¥; Extracto de acetona F

(*Polygonum aviculare*); hierba de cáncer hoja y flor (*Cuphea aequipetala*); Ahuehuete (*Taxadium mucronatum*) y Hierba del hielo (*Gentiana spathacea*). Los resultados se expresan como “positivos o negativos”, refiriéndose a la presencia o ausencia de los grupos de metabolitos secundario en las especies estudiadas

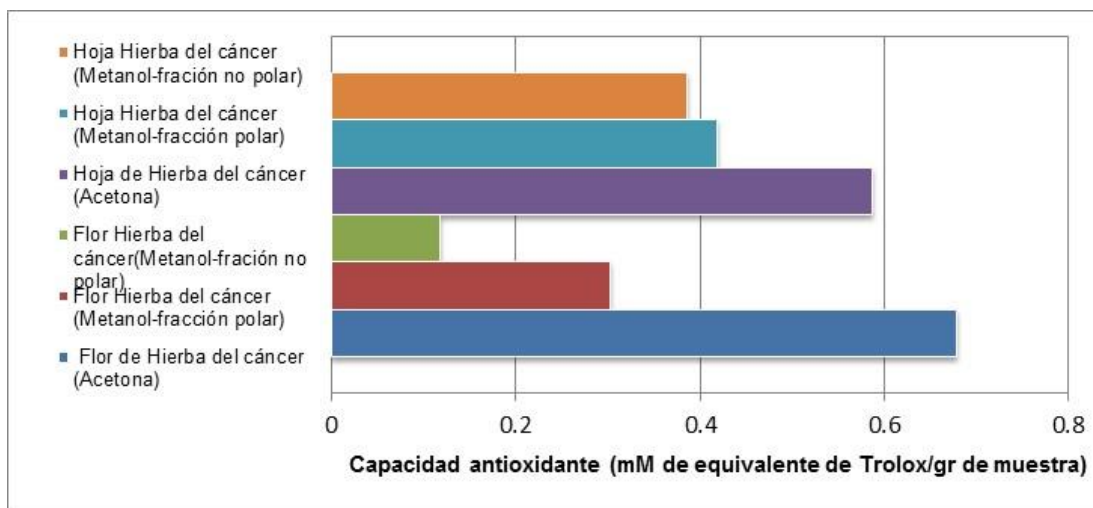
Para el radical DPPH se realizó una curva estándar de Trolox y los resultados se expresan en TAEC (mM de eq. De Trolox/g de muestra). En la figura 1 se muestran los datos de *Polygonum aviculare* con los tres solventes utilizados, donde la mayor capacidad antioxidante fue de 0.0562 mM de eq. De Trolox/g de muestra.

La flor de sanguinaria presenta una mayor actividad antioxidante de 0.562 TEAC con respecto a la hoja, en el extracto acetona y su extracto metanólico fracción polar con 0.478 TEAC, mientras que para la hoja de sanguinaria la mayor actividad se presentó en la fracción metanólica de 0.462 TEAC fracción en la cual se presentaron la mayor parte de metabolitos secundarios y con el extracto de acetona fue de 0.335 TEAC.



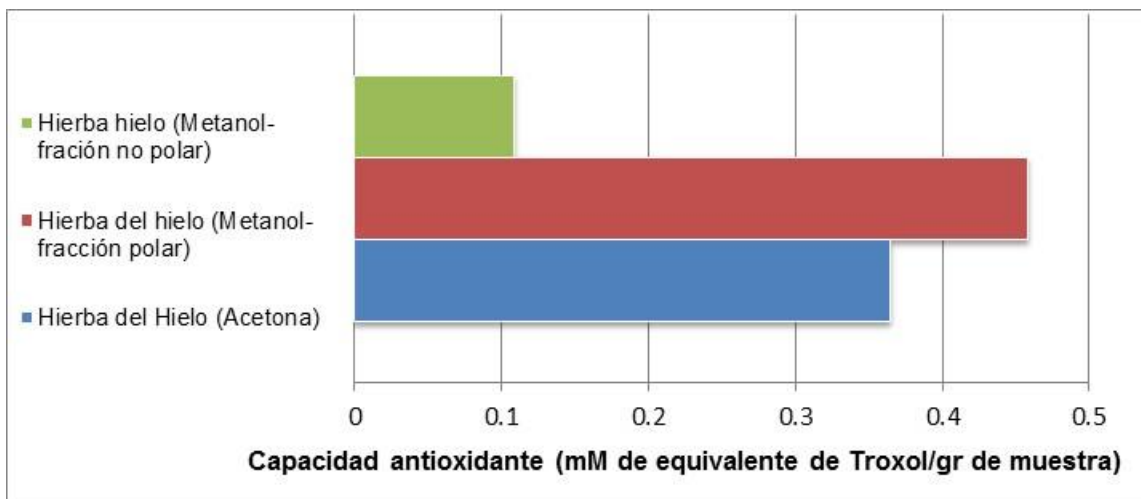
**Figura 1.** Capacidad Antioxidante de hoja y flor de Sanguinaria (por método DPPH).

En el caso de la hierba del cáncer, flor y hoja, figura 2, ambas presentaron la mayor actividad antioxidante en el extracto con acetona, siendo 0.678 TEAC para la flor y 0.586 TEAC para hoja. Los extractos metanólicos de hoja presentan una mayor actividad 0.410 TEAC con respecto a los de la flor 0.250 TEAC.



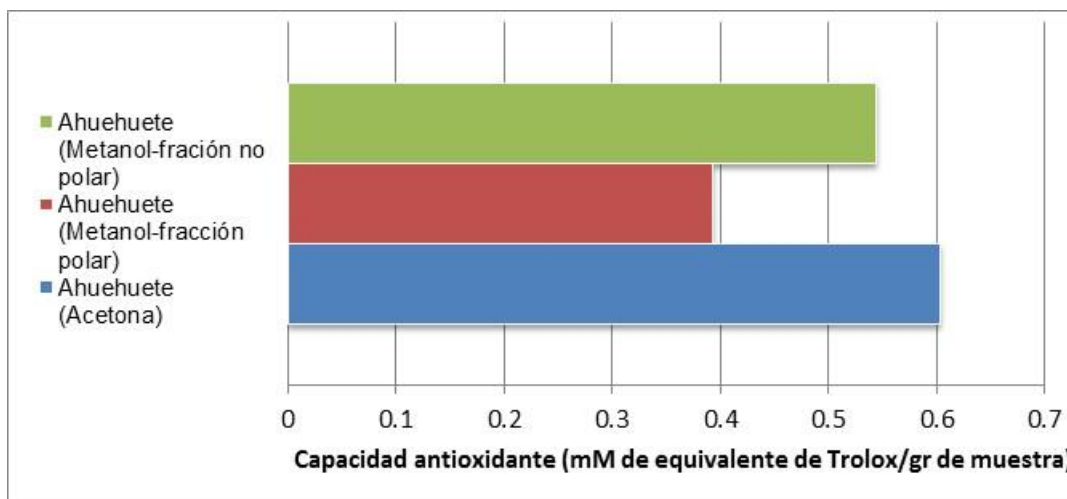
**Figura 2.** Capacidad antioxidante de flor y hoja de la hierba del cáncer. (Método DPPH).

Figura 3. La hierba de hielo presentó una actividad antioxidante de 0.458 TEAC en el extracto metanólico fracción polar, que fue el extracto que presentó la mayoría de los metabolitos en el tamiz fitoquímico, mientras que la actividad antioxidante en extracto con acetona, fue de 0.364 TEAC



**Figura 3.** Capacidad antioxidante de la hierba de hielo (Método DPPH).

El extracto de ahuehuete que presento la mayor actividad antioxidante fue el extracto con acetona, de 0.602 TEAC, seguido del extracto metanólico fracción no polar con 0.544 TEAC



**Figura 4.** Capacidad antioxidante de Ahuehuete, en los tres extractos realizados. (Método DPPH).

Los extractos que presentaron la mayor actividad antioxidante (flor de hierba de cáncer, Ahuehuete, flor de sanguinaria y hierba del hielo), también presentaron metabolitos pertenecientes a compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos se encuentran en grandes cantidades en el reino vegetal, y se han demostrado tener múltiples funciones biológicas, incluyendo la actividad antioxidante. (Kaplan M. y Aviram, 2004; Ricardo Da Silva et. Al, 1991; Satom et. Al., 1996).

## CONCLUSIONES

En los estudios preliminares que se realizaron a Sanguinaria hoja y flor (*Polygonum aviculare*); hierba de cáncer hoja y flor (*Cuphea aequipetala*); Ahuehuate (*Taxodium mucronatum*) y Hierba del hielo (*Gentiana spathacea*) con el extracto de metanol presentaron los siguiente metabolitos secundarios: fenoles, esteroides, alcaloides, flavonoides, azucares reductores, saponinas, taninos cumarinas y glicósidos cardiacos.

Los extractos metanólicos arrojaron la mayor presencia de metabolitos secundarios, sin embargo los extractos de acetona presentaron la mayor capacidad antioxidante, respecto al extracto metanólico.

El extracto de acetona fue el mejor sistema de extracción para la determinación de la actividad antioxidante con DPPH de *Taxodium mucronatum* 0.0602 TEAC y la flor *Cuphea aequipetala* 0.678 TEAC .

## REFERENCIAS

Jiménez Monreal A. M., Sánchez Manzanera M., Martínez Tomé M. (2012). Optimización del método de captación del radical 2,2 difenil-1picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café, p. 69.

Juárez-Rosete C. R., Aguilar-Castillo J. A., Juárez-Rosete M. E., Bugarín-Montoya R., Juárez-López P., Cruz C. E. (2013). Hierbas aromáticas y medicinales en México: *Tradición e Innovación*, 119-122.

Kaplan M., Aviram M. (2004). Red wine administration to apolipoprotein E-deficient mice reduces their macrophage-derived extracellular matrix atherogenic properties. *Biol Res*, 37: 239-245.

Ricardo Da Silva J. M., Darmin N., Fernández Y., Mitjavila S. (1991). Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *J Agric Food Chem*, 39: 1549-1552.

Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H (1996) Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J Agric Food Chem*, 44: 37-41.

Tovar del Rio J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecorregión cafetera. Tesis de licenciatura, Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.