



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ALGUNAS PLANTAS MEDICINALES COMUNES POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DPPH

J. E. Cruz-Espinoza, O. Zaca-Moran, G. Muñoz-Hernández, A. Orduña-Díaz,
V.L. Gayou, R. Delgado-Macuil and M. Rojas-López*

Instituto Politécnico Nacional. CIBA-Tlaxcala

*Email:marlonrl@yahoo.com.mx

Resumen

Se aplicó el método DPPH para la determinar la actividad antioxidante de extractos metanólicos de siete plantas medicinales comunes (*Laurus nobilis*, *Persea americana*, *Origanum vulgare*, *Mentha spicata*, *Mentha piperita*, *Sambucus nigra* y *Moringa oleifera*). Tomando ventaja de la capacidad que poseen los extractos de estas plantas para neutralizar radicales DPPH, se determinó, mediante absorbancia a 517 nm, el porcentaje de inhibición de los extractos de cada planta para neutralizar a este radical. Finalmente mediante la estimación experimental del parámetro IC50 para cada extracto, se determinó que *Laurus nobilis* y *Origanum vulgare* presentaron la mayor actividad antioxidante del grupo de extractos analizados. El uso de este método colorimétrico constituye una herramienta muy útil en la determinación de la actividad antioxidante de extractos de plantas con propiedades benéficas para la salud.

Palabras clave: actividad antioxidante, DPPH, métodos colorimétricos, IC50

Abstract

The DPPH method was applied to determine the antioxidant activity of methanolic extracts obtained from seven common medicinal plants (*Laurus nobilis*, *Persea americana*, *Origanum vulgare*, *Mentha spicata*, *Mentha piperita*, *Sambucus nigra* y *Moringa oleifera*). Taking advantage of the capacity that plant extracts possess to neutralize DPPH radicals, it was determined the percentage of inhibition that plant extracts exhibit against the DPPH radical by using the absorbance at 517 nm. Finally, from the experimental determination of the parameter IC50 for each extract, the highest antioxidant activity was observed in *Laurus nobilis* and *Origanum vulgare* species. The use of this colorimetric method constitutes a useful tool for determining the antioxidant activity from extracts of plants with beneficial health properties.

Keywords: Antioxidant activity, DPPH, colorimetric methods, IC50

Introducción

En el proceso de envejecimiento celular intervienen varios factores fisiológicos, genéticos y ambientales. No obstante, en años recientes el interés por los radicales libres y su relación con el envejecimiento celular ha ido en aumento (1). Los radicales libres son especies químicas, atómicas o moleculares que contienen un electrón sin aparear en su orbital más externo. Esta característica de los radicales libres los convierte en agentes inestables y altamente reactivos, provocando alteraciones en las estructuras biológicas fundamentales como lípidos de membrana, ácidos nucleicos y proteínas. En consecuencia, el estado oxidativo de las células aumenta, el cual está directamente relacionado con el envejecimiento celular y algunos procesos fisiopatológicos como enfermedades cardiovasculares (2), neurodegenerativas (3) cataratas (4) y algunos tipos de cáncer (5).

El consumo de plantas medicinales en forma de infusión o extracto constituye una vía para neutralizar el estado oxidante ocasionado en parte por el estilo de vida que el ser humano tiene actualmente. Debido a que productos naturales provenientes de las plantas han mostrado efecto o actividad antioxidante, la terapia antioxidante basada en el consumo de infusiones o extractos de plantas medicinales representa una alternativa económica para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Uno de los métodos más utilizados para la determinación de la actividad antioxidante está basado en la estabilidad del radical 1, 1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Cuando una solución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrogeno u otra especie de radical (R), se genera la forma reducida DPPH-H o DPPH-R. La producción de la forma reducida DPPH-H ó DPPH-R se caracteriza por la pérdida de color de violeta a amarillo, y en consecuencia una pérdida de absorción óptica de este radical en 517 nm. La pérdida de intensidad de absorción óptica es proporcional a la cantidad de radicales libres capturados. A esta propiedad que exhiben algunos extractos se le conoce como actividad antioxidante.

En este trabajo se utilizó el método DPPH para determinar la actividad antioxidante de extractos metanólicos de nueve especies de plantas comunes de uso medicinal. Estas especies comunes poseen propiedades nutraceuticas, profilácticas y terapéuticas, las cuales ayudan en el tratamiento de diversas

afecciones como espasmos y dolores estomacales, dolores musculares y de cabeza y otros, mediante sus propiedades antiespasmódicas y anti-inflamatorias. El uso y aplicación de métodos de referencia confiables para la cuantificación de componentes antioxidantes es necesario para diseñar herramientas para el estudio de plantas y sus posibles usos terapéuticos.

Desarrollo del tema

Se seleccionaron 7 plantas de uso medicinal común (*Laurus nobilis*, *Persea americana*, *Origanum vulgare*, *Mentha spicata*, *Mentha piperita*, *Sambucus nigra* y *Moringa oleifera*) para evaluar su actividad antioxidante. Las hojas de estas plantas se dejaron secar durante varios días y una vez secas se molieron en mortero, para posteriormente obtener extractos. Para la extracción se agregaron 0.5 g de planta molida en 25 ml de metanol al 80%, y se sonicó durante 25 min. Posteriormente se centrifugo la solución a 4000 rpm durante 15 min a 4 °C y se recuperó el sobrenadante. Para determinar la actividad antioxidante (método DPPH) se diluyo varias veces cada extracto, desde el 100 al 10% y se mezclaron 20 μ l de cada dilución con 200 μ l de una solución stock del radical DPPH a 0.31 mM. Después de 30 min se midió la absorbancia UV-visible de cada reacción incluyendo el DPPH solo como control. La Figura 1 muestra los espectros UV-visible de la reacción del extracto de *Origanum vulgare*-DPPH obtenidos después de 30 min de reacción. Se puede observar la presencia de una banda intensa en 517 nm asociada a la absorción del radical DPPH. Sin embargo, cuando el radical DPPH reacciona durante 30 min con el extracto antioxidante, se observa una disminución de su intensidad conforme aumenta la concentración del extracto.

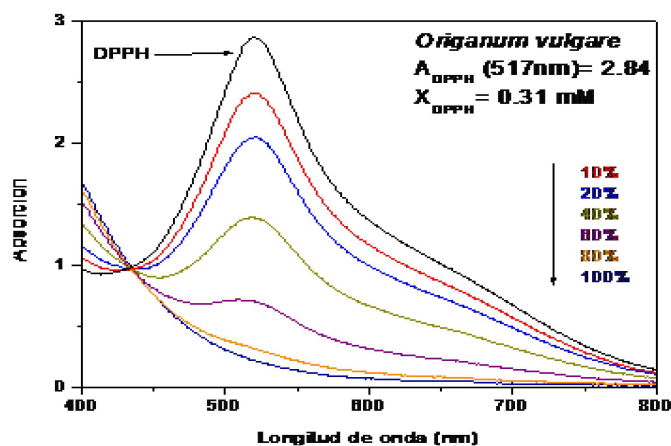


Figura 1. Espectros UV-visible de la reacción extracto de *Origanum vulgare*-DPPH obtenidos después de 30 min.

La actividad antioxidante representa la inhibición de la cantidad de radical DPPH que es neutralizado por el extracto; y por lo tanto, se expresa en términos de las intensidades de absorción del control (ADPPH) y del extracto (AExtr) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\%Inhibicion = \%I = 100 * \left[\frac{A_{DPPH} - A_{Extr}}{A_{DPPH}} \right]$$

La Figura 2 muestra el porcentaje de inhibición del mismo extracto de *Origanum vulgare* y su dependencia funcional con la concentración del extracto. Los símbolos representan los datos experimentales de la Fig. 1, mientras que la línea continua representa un ajuste matemático modelado con la ecuación:

$$Y = a(1 - e^{-xb})$$

Donde Y=%Inhibición, a y b son parámetros de ajuste y x=IC50, propiedad que representa la concentración de compuestos antioxidantes que es capaz de inhibir el 50% del radical DPPH.

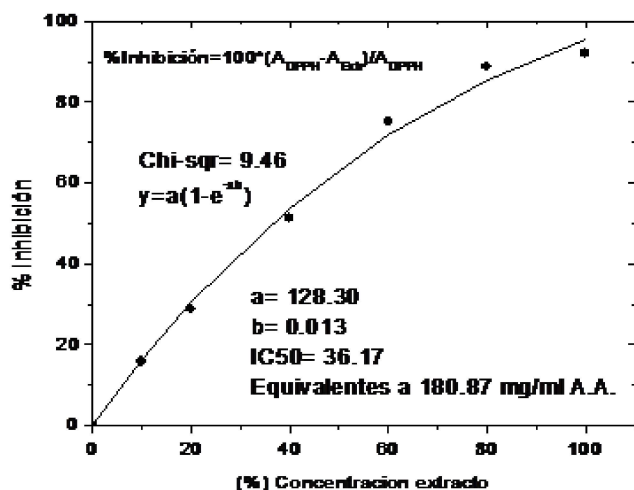


Figura 2. Porcentaje de inhibición del radical DPPH por el extracto metanólico de *Origanum vulgare*.

Finalmente, la Tabla I muestra los parámetros de ajuste a y b, así como los valores de concentración inhibitoria media (IC50) expresados en $\mu\text{g/ml}$ de ácido ascórbico. El ácido ascórbico se utiliza comúnmente como un compuesto antioxidante de referencia. La Tabla I muestra que los extractos de *Laurus nobilis* y de *Origanum vulgare* poseen la mayor actividad antioxidante del grupo de extractos analizados en este trabajo. No obstante, los resultados del análisis de actividad antioxidante indican que todos los extractos

fueron capaces de atrapar radicales DPPH dependiendo de su concentración.

Tabla I. Parámetros de ajuste a y b, y valores de IC50 determinados para cada uno de los extractos metanólicos analizados.

Extracto	a	b	IC50 ($\mu\text{g/ml}$ de ácido ascórbico)
<i>Persea americana</i>	104.4437	0.0152	213.74
<i>Mentha spicata</i>	835.6495	0.0006	474.60
<i>Laurus nobilis</i>	111.1819	0.0168	177.24
<i>Mentha piperita</i>	111.4835	0.0123	240.54
<i>Moringa oleífera</i>	50.2430	0.0137	1944.27
<i>Origanum vulgare</i>	128.3061	0.0136	180.87
<i>Sambucus nigra</i>	70.1572	0.0064	972.83
Ácido ascórbico	239.0516	0.0040	291.86

El método colorimétrico utilizado en este trabajo es altamente práctico y conveniente para determinar las propiedades antioxidantes de las plantas y alimentos con propiedades benéficas para la salud humana.

Referencias

- 1). Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-247.
- 2). Abe J, Berk BC. Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 1998; 8:59-64.
- 3). Lafon-Cazal M, Pietri S, Culcasi M, Bockaert J. NMDA-dependent superoxide production and neurotoxicity. *Nature* 1993; 364: 535-537.
- 4). Rozanowska, M. Blue light-induced reactivity of retinal age pigment. In vitro generation of oxygen-reactive species. *J Biol Chem* 1995; 270: 18825-18830.
- 5). Klauning JE, Xu Y, Bachowski S, Ketcham CA, Isenberg JS, Kolaja KL. Oxidative stress in non genotoxic carcinogenesis. *Toxicology letters* 1995; 82-83:683-691.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con apoyo de Proyecto SIP multidisciplinario 20160500 y 20160501 del Instituto Politécnico Nacional.