

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS Y FRACCIONES DE HOJAS E INFLORESCENCIAS DE AGERATINA GRACILIS

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE EXTRACTS AND FRACTIONS OF LEAVES AND INFLORESCENCES OF AGERATINA GRACILIS.

Jeanet Rodríguez Mayusa¹, Rubén Darío Torrenegra², Yennifer Vera Díaz³, Gina Mendez⁴.

¹Docente Investigador. M.Sc. Facultad de Ciencias. U.D.C.A. Calle 222 No.55-37, Bogotá D.C. jerodriguez@udca.edu.co. ²Docente Investigador. Facultad de Ciencias. U.D.C.A. Calle 222 No. 55-37, Bogotá D.C. rtorrenegra@udca.edu.co. ³Estudiante de Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias. U.D.C.A. Calle 222 No. 55-37, Bogotá. ⁴Docente Investigador. PhD. Biología. Facultad de Medicina. U.D.C.A. Calle 222 No. 55-37, Bogotá D.C. gmendez@udca.edu.co

RESUMEN

La identificación de sustancias de origen vegetal con propiedades medicinales, ha despertado el interés de los investigadores en los últimos años; tal es el caso de aquellas sustancias con actividad antioxidante que han sido identificados en especies de la familia Asteraceae. Teniendo en cuenta que no existen reportes científicos que soporten las propiedades terapéuticas que se le atribuyen a la especie *Ageratina gracilis*, en esta investigación se contribuyó evaluando la actividad antioxidante de los extractos y fracciones polares y apolares de las hojas e inflorescencias de por el método DPPH. Los resultados mostraron que la fracción etanólica de hojas presentó la mejor actividad antioxidante comparada con los demás extractos y fracciones.

Palabras Clave: *Ageratina gracilis*, actividad antioxidante, DPPH

SUMMARY

The identification of substances of plant origin with medicinal properties has aroused the interest of researchers in recent years. Such is the case of those substances with antioxidant activity that have been identified in species of the family Asteraceae. Because there are no scientific reports supporting the therapeutic benefits attributed to the species *Ageratina gracilis*, the antioxidant activity of the extracts and polar and non-polar fractions of the leaves and inflorescences was evaluated by the DPPH method. The results showed that ethanol fraction of leaves had the best antioxidant activity compared to the other extracts and fractions.

Key words: *Ageratina gracilis*, antioxidant activity, DPPH.

INTRODUCCIÓN

La investigación y el conocimiento científico en plantas colombianas se han incrementado en los últimos años gracias a la gran biodiversidad vegetal con que se cuenta y a los efectos que actualmente se evidencian a través de estudios *in vitro*. Según García (1975) *Ageratina gracilis*, es una especie que ha sido utilizada para el tratamiento de ciertas enfermedades, entre ellas el cáncer, y de acuerdo con Pedrozo (1981) es una especie que contiene flavonoides de interés biológico como la quercetina, que se destaca por su actividad antioxidante, y por ser efectiva en la prevención de enfermedades neurodegenerativas y el cáncer, sin embargo, esta especie no cuenta con reportes científicos relacionados con su actividad biológica o con sus beneficios terapéuticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de PRONAU DCA de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A., donde fueron realizados estudios fitoquímicos de *A. gracilis*. La especie vegetal en estudio fue recolectada en el páramo de Guasca, Cundinamarca a 2800 m.s.n.m., un ejemplar fue enviado al Herbario Nacional de la Universidad Nacional de Colombia para su identificación y clasificación botánica, fue radicado con (No. COL 572755) (Figura 1), se hizo recolección de la parte aérea que posteriormente fue separada en hojas e inflorescencias para su posterior extracción.



Figura 1. Ejemplar recolectado de *Ageratina gracilis*

Obtención de extractos de hojas e inflorescencias de *Ageratina gracilis*

El material vegetal fue secado a temperatura ambiente, luego se procedió a moler independientemente las hojas (68,53 g) y las inflorescencias (203,78 g) para una extracción sólido-líquido mediante Soxhlet, usando éter de petróleo y posteriormente Etanol, por un lapso de 72 horas cada uno, obteniendo dos extractos, después de esto se realizó la concentración con el rotaevaporador. Se obtuvieron 44,8 g de extracto etanólico inflorescencias; 10,27 g de extracto etéreo inflorescencias; 15,99 g de extracto etanólico hojas y 7,2 g de extracto etéreo hojas. Para la obtención de las fracciones etanólicas de inflorescencias se utilizaron 40 g de extracto total etanólico usando la técnica de fraccionamiento sólido-

líquido por soxhlet para obtener la fracción clorofórmica (CHCl_3) (6,92 g), la fracción Acetato de etilo (AcEtOH) (4,63 g) y la fracción etanólica (EtOH) (18,49 g). Por otra parte, para obtención de fracciones etéreas se utilizaron 6 g de extracto total etéreo para lograr una fracción en CHCl_3 (5,47 g) una fracción de AcEtOH (0,4 g) y la última fracción etanólica (0,33 g). Para la obtención de fracciones etanólicas de hojas se utilizaron 10 g de extracto total etanólico, siguiendo la misma técnica usada para las inflorescencias, obteniendo fracciones CHCl_3 (2,02 g), AcOEt (2,78 g) y EtOH (3,89 g). Además, para obtención de fracciones etéreas se utilizaron 5,5 g de extracto total etéreo para lograr las tres diferentes fracciones: CHCl_3 (5,29 g), AcOEt (0,06 g) y EtOH (0,02 g). (Figura 2)



Figura 2. Diagrama de flujo de la extracción y fraccionamiento de las hojas e inflorescencias de *Ageratina gracilis*

Determinación de la actividad antioxidante de los extractos y fracciones de las hojas e inflorescencias de *Ageratina gracilis* por el método DPPH

El ensayo de decoloración del catión radical y oxidante 2,2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH) identifica la capacidad captadora de radicales libres de sustancias antioxidantes que donan un átomo de hidrogeno para que sea reducido, esta reacción se observa cuando el radical en su estado oxidado es de color violeta y al reducirse vira hacia amarillo, evidenciado en un delta de absorbancia determinado espectrofotométricamente a longitudes entre los 515 y 520 nm (Molyneux, 2004). Inicialmente se tomó una 1ml de solución de DPPH con 0,2 ml de metanol, calculando la cantidad exacta del radical hasta obtener una absorbancia de 0,91 a una longitud de onda de 517 nm en espectrofotómetro UV-VIS JENWAY 6405, esto con el fin de obtener el porcentaje de captación del radical libre, posteriormente se realizaron diluciones de extractos y fracciones con metanol a concentraciones de 2000, 1000, 500, 250 y 100 ppm. Se utilizó como control positivo la quercetina. El ensayo se llevó a cabo mezclando 0,2 ml de los extractos preparados de 2000 ppm con 1 ml de la solución DPPH, se llevaron al espectrofotómetro donde se determinaron los valores de absorbancia a tiempo cero y después de 10 minutos hasta calibrar la curva. Posteriormente se realizó el mismo procedimiento para las diferentes concentraciones de los

extractos y fracciones. Por último, se calculó el porcentaje de inhibición del antioxidante. Las mediciones se calcularon con la media de 3 determinaciones y la desviación estándar (DE) de cada grupo de datos. Las series de datos se modelaron de forma lineal para determinar los IC50, se probaron todos los supuestos de la estadística paramétrica mediante pruebas de hipótesis de Levene, test de Shapiro-wilk y Kolmogorov-Smirnov para luego ser sometidos a análisis de varianza (ANOVA). Las medias entre tratamientos se compararon mediante test de diferencias mínimas significativas HSD de Tukey y test de Sheffé, usando el software IBM-SPSS statistics 21.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se estableció la actividad de los extractos y fracciones para estabilizar el radical DPPH evidenciado en el cambio de coloración y comparando con el estándar quercetina. Todos los porcentajes de inhibición de cada uno de los extractos y fracciones fueron sometidos a regresión lineal para determinar la concentración que inhibe la acción del radical DPPH en un 50 % (IC50). La actividad antioxidante de los extractos y fracciones con la variable de respuesta IC50, se evidenciaron diferencias entre las hojas e inflorescencias y sus polaridades de ($p < 0,001$; $\alpha = 0,05$), encontrando que la interacción más significativa estaba en las fracciones etanólicas. (Figura 3)

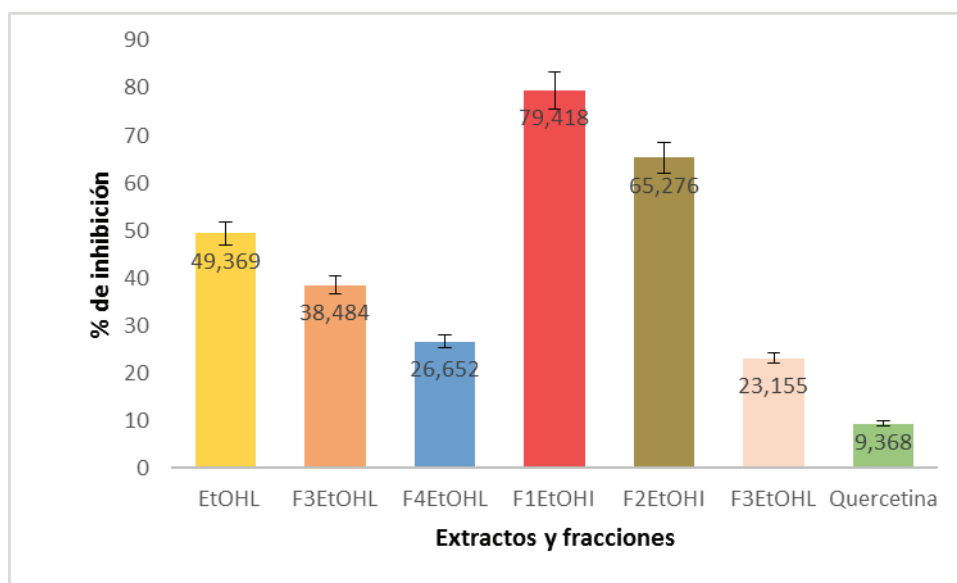


Figura 3. Porcentaje de captación de radicales libres de las hojas e Inflorescencias de los Extractos y fracciones de *A. gracilis*

La fracción polar etanólica de hojas (F3EtOHL) de *Ageratina gracilis* mostro la mayor actividad antioxidante con 23,155 % de captación de radicales libres comparado con los demás extractos y fracciones.

El extracto polar y las fracciones polares de hojas de *A. gracilis* presentaron una mayor actividad antioxidante que el extracto apolar y sus fracciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. CLAVIN, M.L., REDKO, F., ACEVEDO, C., MARTINO, V., GORZALCZANY, S., 2013 "In Vivo Anti-inflammatory Activity and Flavonoid Identification in Medicinal E. Species", *Pharmacognosy Journal*, In Press, Accepted Manuscript.
2. GARCIA, H. 1975. "Flora medicinal de Colombia" Tomo III, Ed. Imprenta NAL., Bogotá. p. 345-350.
3. HARBORNE J, B. 1973, *Phytochemical Methods*, Chapman and Hall, Pp 3 - 266.
4. H.B.K. 1970. "Ageratina gracilis" R.M. King & H. Rob., *Phytologia*.19:214 p.17 [en línea] Disponible en: [http://bibdigital.rjb.csic.es/Imagenes/Ff\(8\)MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_46/MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_46_038.pdf](http://bibdigital.rjb.csic.es/Imagenes/Ff(8)MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_46/MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_46_038.pdf) [citado en 20 de Mayo de 2014].
5. HERZ, W, 2001, *Chemistry of the Eupatoriinae*, *Biochemical Systematics and Ecology* 29, 1115–1137.
6. MAAS,M., DETERS,A.M., HENSEL, A., 2011b, Anti-inflammatory activity of *E. perfoliatum* L. extracts, eupafolin, and dimeric guaianolide via iNOS inhibitory activity and modulation of inflammation-related cytokines and chemokines , *Journal of Ethnopharmacology*, 137, Issue 1, 371-381.
7. MOLYREUX, P.2004. The use of the stable free radical diphensylpicil-hidrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J SA technd*, 2004, 26 (2): 211-219.
8. PEDROZO, P. 1981. "Contribución al estudio fitoquímico de *Eupatorium gracile* y sus propiedades fisiológicas". Tesis de maestría. Facultad de ciencias Universidad Javeriana.
9. PEREZ, E. 1996. "Plantas útiles de Colombia". Cauca, Colombia: ed. Centenario. pp.296.
10. PRIOR, R.L.; WU, X. AND SC HAICH, K. 2005. Standardized Methods for Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53, p.p. 4290- 4302.
11. RINCON MESA, MARIA DEL CARMEN. 1988. contribución al estudio fitoquímico DE *E. stoechadifolium* (*Lourteigia stoechadifolia*), *E. viscosum* (*Ageratina viscosa*) y *E. graccilevar*. *Epilobioides* (*Agetarina gracilis*). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Javeriana.
12. ROGINSKY, V. AND LISSI, E.A. 2005. Review of Methods to Determine Chain-Breaking Antioxidant Activity in Food. *Food Chem.* 92, p.p. 235-254.
13. ROMERO, C.; ZAMILPA, A.; GONZALES, M.; ALONSO, D.; JIMÉNEZ, E.; NICASIO, P.; AGUILAR, L.; TORTORIELLO, J. 2013. "Pharmacological and chemical study to identify wound-healing active compounds in *Ageratina pichinchensis*" *Rev. PubMed*. DOI: 10.1055/s-0032-1328462 [en línea] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23599006> [citado en 18 de octubre 2016].
14. ROGINSKY, V. AND LISSI, E.A. 2005. Review of Methods to Determine Chain-Breaking Antioxidant Activity in Food. *Food Chem.* 92, p.p. 235-254.
15. TORRENEGRA, R.; PEDROZO, J.; ESCARRIA, S. 1984. "Flavonoides de *Eupatorium gracile*". *Rev. Latinoamer. Quim.* Vol. 15-3. p.129.
16. VARGAS, W. 2002. "Guía ilustrada de las plantas de las montañas del Quindío y los Andes centrales. Manizales, Colombia": Editorial Universidad de Caldas. p.35.