

# FLAVONOIDES-ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PLANTAS MEDICINALES DEL CUSCO

A. TUPAYACHI, J. ZAMALLOA, C. SERRANO,  
J. GONZALES, A. M. LECHUGA, J. FARFÁN.

## RESUMEN

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes. Tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo enfermedades cardiovasculares y el cáncer.

En la presente investigación fue evaluada la actividad antioxidante de algunas Plantas Medicinales en extractos metanólicos, por el método de Azul de Molibdeno, que se basa en la formación de un complejo azul Fósforo-Molibdeno (V). Los resultados fueron expresados en mg de ácido ascórbico (antioxidante), reportando valores de 6 a 29 mg para las plantas en estudio lo que implica que la mayor o menor actividad antioxidante que presentaron las muestra vegetales se encuentran en relación al contenido de compuestos fenólicos-flavonoides según la especie. Comparados rutina y silimarina (flavonoides) que reportan 42 y 32 mg de ácido ascórbico, lo cual indica elevada actividad antioxidante. En esta investigación, se consideran conceptos claves: **plantas medicinales, flavonoides, antioxidante y efecto terapéutico.**

## INTRODUCCIÓN

Los flavonoides<sup>1</sup> son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioleta, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras.

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos<sup>2</sup> y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante<sup>3,4</sup>.

Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías,

incluyendo enfermedades cardiovasculares y el cáncer, tema que viene ganando interés entre los científicos<sup>5</sup>.

Existe una diversidad de metodologías para evaluar la actividad antioxidante. Uno de los más sencillos y utilizados se basa en la capacidad atrapadora de radicales libres con el 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) lo que lo hace apto para analizar diversidad de extractos o monitorear el fraccionamiento de los mismos y también para analizar sustancias puras<sup>6</sup>.

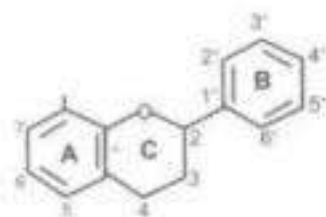
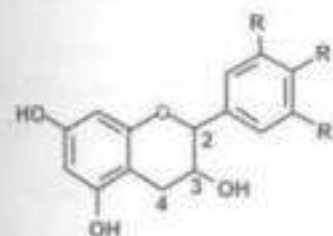
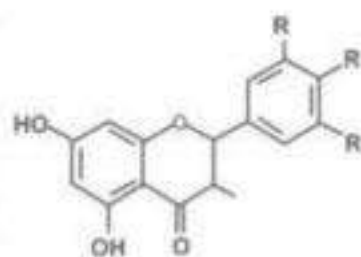


Fig. 1. Estructura básica de los flavonoides y sistema de numeración



Flavonoides (Catequina o Catequina)

R = H, OH



Flavonoides

R = H, OH

Se piensa que las plantas en estudio tienen actividad antioxidante. Como tal, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de un determinado número de plantas medicinales de la región de Cusco, utilizando el método que se basa en la formación del complejo azul fósforo-molibdeno (V) para comparar con el ácido ascórbico<sup>7</sup>. El aporte de esta investigación es de gran importancia, puesto que se trabajó con plantas nativas entre otras, en un medio como el nuestro donde el sector mayoritario está constituido por personas de escasos recursos económicos, quienes consideran a la medicina tradicional como una alternativa a su alcance.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Biológico

Las Plantas en estudio han sido identificadas botánicamente como:



- \* *Mutisia acuminata* (Chinchircoma)
- \* *Mutisia cochabambensis* (Wayurkuma)
- \* *Mutisia lanata*

Fig. 2 *Mutisia cochabambensis*



- Mutisia venusta*
- Chuquiraga jussiei* (kiswara, Qharisirviy o kentayllaulli)
- Berberis Boliviana* (fruto) (chekche)

Fig. 3 *Mutisia venusta*



*Barnadesia hórrida* (llaulli, llaulli llaulli, kiska llaulli).

*Muhelenbeckia vulcánica* (raíz) (mullak'a)

*Croton Lechleri* (látex del tallo) (sangre de grado).

Fig. 4. *Barnadesia hórrida*

Donde no se especifica, significa que se utilizó toda la parte aérea.

Del Estudio Fitoquímico:

- Espectrofotómetro visible
- Equipo de baño de agua
- Extractos metanólicos de las plantas en estudio
- Reactivos: Molibdato de amonio,  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Metanol, Ácido ascórbico.

## MÉTODO

### Preparación de Muestras

Recolección, secado, molienda y extracción de los metabolitos secundarios de cada especie estudiada. La recolección se realizó en época de floración.

### Extractos Metanólicos

Las plantas secas fueron maceradas en metanol por 24 horas. Luego de filtrar el extracto, se dejó evaporar a temperatura del ambiente. Para el ensayo se utilizaron 100mg de extracto seco en 0.1 ml de metanol. También se trabajó con una muestra de 100 mg de glucosa, otra de 100 mg de silimarina, 100 mg de rutina y 100 mg de curcumina, como metabolitos de referencia.

### Método de Azul de Molibdeno (Espectroscopia Visible)

Se basa en la formación del color azul Mo (V) como resultado de la reducción del Mo (VI) por acción del antioxidante. Se monitorea por su absorbancia a una determinada longitud de onda, la actividad quimiluminiscente o potencial eléctrico<sup>8</sup>

### Curva de Calibración

Se preparó una solución estándar de ácido ascórbico en metanol (100mg/mL) y se dispuso según:

| ACIDO ASCÓRBICO (mL) | REACTIVO FOSFOMOLIBDATO (mL) | METANOL (mL) | ABSORBANCIA | ACIDO ASCÓRBICO (µg) |
|----------------------|------------------------------|--------------|-------------|----------------------|
| 0                    | 1                            | 1            | 0           | 0                    |
| 0.1                  | 1                            | 0.9          | 0.1         | 10                   |
| 0.2                  | 1                            | 0.8          | 0.21        | 20                   |
| 0.3                  | 1                            | 0.7          | 0.33        | 30                   |
| 0.4                  | 1                            | 0.6          | 0.39        | 40                   |
| 0.5                  | 1                            | 0.5          | 0.46        | 50                   |

Los tubos se sometieron a baño de agua por 45 minutos, luego se agregó 5 ml de agua y se realiza la lectura en el espectrofotómetro visible a la longitud de onda ( $\lambda$ ) de 695 nm.

### Lectura de las Muestras

100 mg de extracto metanólico seco disuelto en 0.1 mL de metanol, más 0.9 mL de metanol y 1 mL del reactivo fosfomolibdato. Se procede luego como en el caso de la Curva de Calibración.

### RESULTADOS:

- A. Linealizando la recta con los datos obtenidos para Absorbancia Vs mg de ácido ascórbico, se muestran en el cuadro N° 1 y gráfico N° 1.

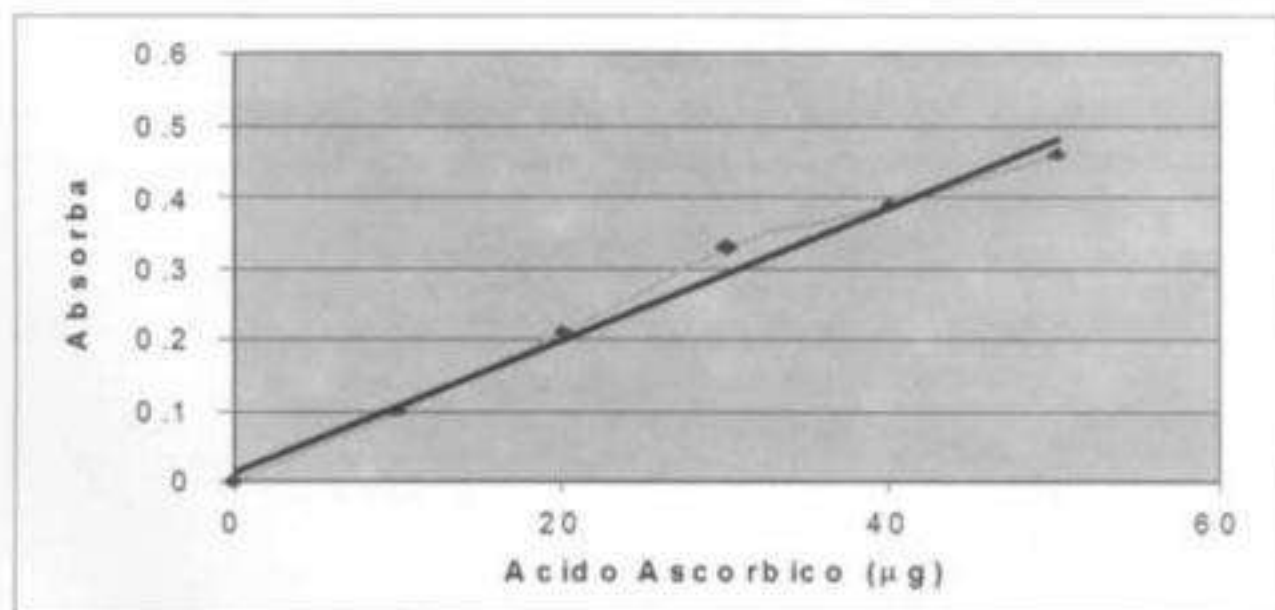
Cuadro N° 1

| ABSORBANCIA | ACIDO ASCÓRBICO (mg) |
|-------------|----------------------|
| 0           | 0                    |
| 0,1         | 10                   |
| 0,21        | 20                   |
| 0,33        | 30                   |
| 0,39        | 40                   |
| 0,46        | 50                   |

Fuente: Propia

Gráfico N° 1

Curva de Calibración-Actividad Antioxidante



Fuente: Propia

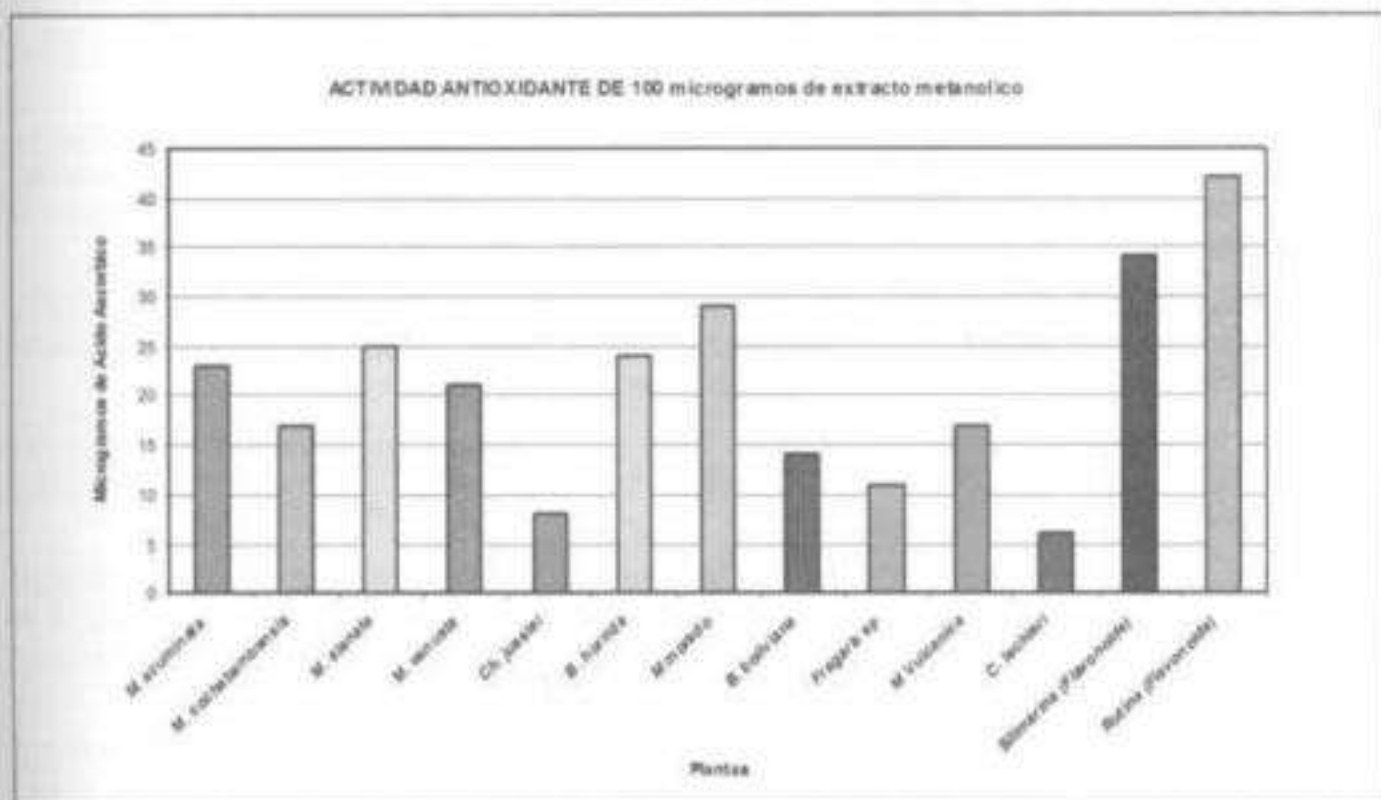
- B. Los resultados de la actividad antioxidante, expresados en función de mg de ácido ascórbico por 100 mg de extracto seco, aparecen en el cuadro N° 2 y gráfico N° 2 respectivamente.

**Cuadro N° 2**  
**µg de Ácido Ascórbico**

| PLANTAS                  | ACIDO ASCÓRBICO (µg) |
|--------------------------|----------------------|
| Mutisia acuminata        | 23                   |
| Mutisia cochabambensis   | 17                   |
| Mutisia lanata           | 25                   |
| Mutisia venusta          | 21                   |
| Chuquiraga jussiei       | 8                    |
| Barnadesia hórrida       | 24                   |
| Berberis Boliviana       | 14                   |
| Muhlenbeckia vulcánica   | 17                   |
| Fragaria sp 11           |                      |
| Croton Lechleri          | 6                    |
| Zea mays L (maíz morado) | 29                   |
| Silimarina (Flavonoide)  | 34                   |
| Rutina (Flavonoide)      | 42                   |

Fuente: propia

**GRÁFICO N° 2**



## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados de actividad antioxidante expresados en función de mg de ácido ascórbico por 100 mg de extracto seco aparecen en el cuadro N° 1. (Estos valores son el promedio de dos mediciones). En este Cuadro no aparece la actividad antioxidante de la glucosa ni de la *Curcumina* porque se obtienen lecturas que son prácticamente cero. Esto significa que la formación del complejo azul fosfomolibdeno (V) no se propicia por la presencia de azúcares reductores. Pero en el caso de la *Curcumina*, dicha sustancia exhibe actividad antioxidante cuando se utiliza el método de DPPH<sup>•</sup> pero con la metodología empleada en este trabajo no se detecta actividad antioxidante.



En cambio, para la silimarina, las flavanolignanos antihepatotóxicos de las semillas de *Silybum marianum* si muestran actividad antioxidante con el método del azul de molibdeno. La silibina y el (+)-cianidinol-3 exhiben una actividad comparable al hidroxianisol butilato y el hidroxitolueno butilado cuando se utiliza el sistema  $Fe^{2+}$ -linoleato<sup>10</sup>.

Al comparar la actividad antioxidante con el del maíz morado (*Zea mays* L) presenta elevada actividad respecto de las muestras estudiadas. Se sabe que esta materia prima contiene gran cantidad de antocianinas muy activas, donde predomina el cianidin-3-O-glucósido. Además el maíz morado<sup>11</sup> es también activo en la inhibición del cáncer del colon<sup>12</sup>, respecto de la fresa-fruto (*Fragaria* sp) que muestra actividad antioxidante menor.

## CONCLUSIONES:

- A. Todos los extractos de las cuatro especies de *Mutisia*, *Chuquiraga jussiei*, *Barnadesia horrida* pertenecientes a la familia de las Asteraceas muestran actividad antioxidante. Se sabe que estas plantas son ricas en flavonoides<sup>13</sup>. En cambio, los frutos de *Berberis boliviana* muestran actividad antioxidante menor.
- B. El flavonoide Rutina muestra notable actividad antioxidante con esta metodología, así como la especie *Muhlenbeckia vulcánica* que contiene compuestos quinónicos<sup>14</sup>. La resina de sangre de grado tiene actividad leve, teniendo en cuenta que es rica en polifenoles.<sup>15</sup>

## CITAS:

1. Llamado también antoxantinas o flavonas (Fig. 1), se hallan presentes en todas partes de la planta algunas se encuentran ampliamente distribuidas, las más comunes son las flavonas y flavonoides, fueron descubiertos por el Premio Nobel Sent-Cyörgy, quien en 1930 aisló de la cáscara de limón una sustancia, la Citrina, que regulaba la permeabilidad capilar.
2. Son sustancias que poseen un anillo aromático, entre ellos los flavonoides-antioxidantes. La capacidad de los polifenoles vegetales para actuar como antioxidantes en los sistemas biológicos, es la de unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportador de hormonas, y ADN; cataliza el transporte de electrones y depuran radicales libres.
3. Bloquean el efecto dañino de los denominados radicales libres, ayudan a mantener en forma nuestro organismo, se oponen a los procesos oxidativos de los músculos y evitan la oxidación de las mitocondrias, conservando su continua producción de energía.
4. Los radicales libres son fragmentos moleculares con un electrón desapareado, son altamente reactiva, alteran el equilibrio normal de los sistemas biológicos, que con el tiempo conduce a la muerte celular.
5. Instituciones científicas como el Research Center of Ageng USA, han conducido investigaciones sobre antioxidantes, las evidencias demuestran que un grupo de compuestos vegetales (flavonoides), colorantes naturales, vitaminas reducen el riesgo de desarrollar enfermedades como el Cáncer y afecciones cardiovasculares.
6. Burda S. et.al: "Antioxidant and Antirradical Activities of Flavonoids". *J.Agric. Food Chem.* 49; P 27, 2001.
7. La formación de radicales libres en la mezcla de reacción se inhibe por adición del antioxidante.
8. Prieto P.: "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Anal", *Biochem.*, P. 269-337,1999.
9. Eun Kyoung Son et. al.: "Diarylheptanoids with free radical scavenging and hepatoprotective activity in vitro from curcuma longa Planta. *Med.*67, P. 876, 2001.
10. Valenzuela A.et.al.: "Antioxidant properties of the flavonoids silybin and (+)-cianidinol-3". *Plant Med.* 52, P. 438,2002

11. Hiromitsu A. et al. : "Anthocyanins isolated from purple corn (Zea Mays L.)" P. 24-30, 2002
12. Un número creciente de sustancias naturales se han identificado como moduladores del proceso de carcinogénesis; entre ellas se encuentran los flavonoides. Diversos datos experimentales han demostrado la acción antiproliferativa y anticarcinogénica, así como el papel de agente quimiopreventivo de los flavonoides. Entre los numerosos fenómenos que tiene lugar durante el proceso carcinogénico y que ofrecen opción para la modulación mediante factores externos, se encuentra la formación de metabolitos carcinógenos, que se forman por acción de enzimas citosólicas y microsómicas. Estas enzimas controlan este paso crítico en el proceso carcinógeno. Estudios In-vivo e In-vitro han demostrado que los flavonoides pueden modular su actividad.  
  
En experimentos In-vitro se ha confirmado el papel protector de la Quercetina, la cual ejerce efectos de inhibición frente a células cancerígenas en humanos: en colon, glándulas mamarias y ovario, en región gastrointestinal y en la leucemia.
13. Serrano C.: "Componentes de *Mutisia cochabambensis* (Hieronimus)". Tesis Maestría PUCP-Lima P.87, 2001.
14. Martinod P. et al.: "Pigmentos antraquinónicos en *Muhlenbeckia tamnifolia* y en *Muhlenbeckia vulcanica*". Politécnica III, P. 111, 1973.
15. Philipson J. et al.: "Polyphenolic compounds from *Croton lechleri* Phytopchemistry" N° 30, P. 20 - 33, 1991.

## BIBLIOGRAFÍA:

- BURDA, S. et al.  
2001 "Antioxidant and antiradical activities of flavonoids". J. Agric. Food Chem.
- EUN KYOUNG SON et al.  
2001 "Diarylheptanoids with free radical scavenging and hepatoprotective activity in vitro from *curcuma longa* Planta". Med.67.
- EDENHARDER, R. et al.  
2001 "Isolation and Characterization of structurally novel antimutagenic flavonoids from spinach". J. Agric. Food Chem. 49, P. 27-67
- HAGIWARA, A. et al.  
2001 "Pronounced inhibition by a natural anthocyanin- Associated colorectal carcinogenesis in male." Cancer Letters 171, P. 17
- HIROMITSU, A. et al.  
2002 "Anthocyanins isolated from purple corn (Zea Mays L.)"
- KAHKONEN, M. et al.  
1999 "Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds". J. Agric. Food Chem. 47, P. 39-54
- MARTINOD, P. et al.  
1973 "Pigmentos antraquinónicos en *Muhlenbeckia tamnifolia* y en *Muhlenbeckia vulcanica*" Politécnica III, P. 111.
- PHILIPSON, J. et al.  
1991 "Polyphenolic compounds from *Croton lechleri*". Phytopchemistry 30, P. 20 -33 .
- PRIETO, P.  
1999 "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex". Anal. Biochem. 269, P. 337

SERRANO, C.

2001 "Componentes de *Mutisia cochabambensis* (Hieronimus)". Tesis Maestría PUCP, Lima.

VALENZUELA, A .et.al.

2002 "Antioxidant properties of the flavonoids sylibin and (+)-cianidinol-3". *Plant Med.*