

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/262443470>

Actividad antioxidante in vitro de extractos de tallos de Polygala sp.

Article in *Revista Cubana de Plantas Medicinales* · December 2009

CITATION

1

READS

78

3 authors, including:



Miguel Angel Puertas-Mejia
University of Antioquia

47 PUBLICATIONS 664 CITATIONS

SEE PROFILE



Diego Rios

6 PUBLICATIONS 25 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



□ Development of a Dermocosmetic Prototype Based on Bioactive Compounds from Colombian Marine Macroalgae. [View project](#)



Caracterización y actividad antimalárica de metabolitos secundarios de algunas especies de plantas medicinales nativas de los géneros Piper y Calophyllum para la formulación como productos farmacéuticos con actividad antimalárica [View project](#)

Actividad antioxidante *in vitro* de extractos de tallos de *Polygala* sp.***In vitro* antioxidant activity of extracts from *Polygala* sp. stems****Miguel A. Puertas-Mejía^I; Jhon D. Ríos-Salazar^{II}; Jairo A. Sáez-Vega^{III}**

^I Doctor en Química. Instituto de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

^{II} Químico. Instituto de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

^{III} Doctor en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: desde hace mucho tiempo, el empleo de extractos naturales con propiedades terapéuticas ha sido de gran importancia para el control de muchas enfermedades en humanos y plantas. Desde el punto de vista medicinal se encuentran bajo estudio algunos reportes sobre la actividad biológica de la especie *Polygala* sp. Lo anterior permite suponer que esta planta puede ser una fuente promisoría de compuestos con una alta actividad antioxidante.

OBJETIVO: aislar, identificar y evaluar la actividad antioxidante de extractos y algunos de sus componentes.

MÉTODOS: tallos secos y pulverizados de *Poygala* sp. fueron sometidos a percolación con metanol y diclorometano; sus respectivos extractos se sometieron a cromatografía en columna y 2 compuestos fueron aislados e identificados por espectroscopia de resonancia magnética nuclear. El potencial antioxidante se determinó sobre la base de la capacidad de atrapamiento del radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH·, 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

RESULTADOS: el estudio de la composición química de los extractos de los tallos permitió la identificación de 2 lignanos de tipo 2,7'-ciclolignanos-9'-olidos, conocidos como a- y b-peltatina.

CONCLUSIONES: los datos presentados en este estudio demostraron que todas las muestras evaluadas poseen propiedades antioxidantes, lo cual soporta el uso tradicional de *Polygala* spp. para el tratamiento de diferentes enfermedades.

Palabras clave: *Polygala* sp., antioxidantes naturales, ensayo DPPH·, peltatina, ciclolignanos.

ABSTRACT

INTRODUCTION: from long time ago, the use of natural extracts with therapeutical properties has

been very important for control of many human and plant diseases. From the medicinal point of view some reports are studied in relation to biological activity of *Polygala* sp. species. It entails that this plant may be a promissory source of compounds having a high level of antioxidant activity.

OBJECTIVE: to isolate, identify and assess the antioxidant extracts activity and of some of its constituents.

METHODS: dried and pulverized stems of *Poygala* sp. underwent a percolation with methanol and dichloromethane; respective extracts underwent a column chromatography and two compounds were isolated and identified by nuclear magnetic resonance spectroscopy. Antioxidant potential was determined on the base of trapping ability of stable radical 2,2-diphenyl -1-picrylhydrazyl.

RESULTS: study of chemical composition of stem extracts allowed us to identify two lignins type 2,7-cyclolignans-9 olides, identified as a- and b-peltatin.

CONCLUSIONS: data from this study demonstrate that all assessed samples have antioxidant properties supporting the traditional use of *Polygala* spp. for the treatment of different diseases.

Key words: *Polygala* sp., natural oxidants, DPPH· trial, peltatine, cyclolignans.

INTRODUCCIÓN

Desde hace mucho tiempo, el empleo de extractos naturales con propiedades terapéuticas ha sido de gran importancia para el control de muchas enfermedades en humanos y plantas. Esta característica, sumada a la actividad biológica que poseen algunos extractos, puede incrementar la resistencia de la planta al crecimiento de microorganismos con propiedades toxicológicas, que al nivel farmacéutico y de alimentos aumentan su valor agregado, lo cual evita tanto la contaminación por organismos patógenos como por las reacciones de oxidación.¹⁻³ Hoy día, la búsqueda de nuevas fuentes de sustancias antioxidantes, preferiblemente de origen vegetal, que puedan disminuir o eliminar las reacciones de degradación oxidativa en sistema biológicos y alimenticios, se ha convertido en un reto para la comunidad científica, porque además de aprovechar de modo razonable los recursos naturales, ayudaría a mejorar las condiciones de vida. Las ventajas del empleo de las plantas son que, junto a sus principios activos existen en muchos casos otros constituyentes de acción sinérgica, que potencian su acción y la hacen más completa y duradera que el principio o principios activos aislados. No obstante, ciertas plantas medicinales no han mostrado las propiedades que les atribuye la experiencia popular, e incluso algunas han resultado peligrosas. Adicionalmente, empleando plantas medicinales como tratamiento, se actúa sobre el organismo mediante un complejo de sustancias biológicas activas o en apariencia inactivas, porque un gran número de estas retardan o aceleran la reabsorción de las sustancias activas por los tejidos, así como su evacuación por conducto de la orina o de la bilis. La familia Polygalaceae cuenta con alrededor de 750 especies al nivel mundial, distribuidas en 12 géneros; el más representativo es el *Polygala*, que incluye la especie bajo estudio.⁴ En algunas especies de esta familia se han reportado diferentes actividades antioxidantes, insecticidas y antifúngicas.^{5,6} Desde el punto de vista medicinal se encuentran algunos reportes sobre la actividad inhibidora del dolor abdominal, reducción de la glucosa en la sangre y propiedades anti-VIH.⁷⁻⁹ Adicionalmente, los estudios en fitoquímica relacionan una gran variedad de compuestos polifenólicos como xantonas, flavonoides y derivados de bifenilos.¹⁰ Lo anterior permite suponer que la especie bajo estudio puede ser una fuente promisoría de compuestos con una alta actividad antioxidante.

MÉTODOS

Material vegetal

Los tallos de *Polygala* sp. fueron recolectados en el municipio de Villanueva, departamento de Bolívar (Colombia). Un espécimen fue identificado por el biólogo *Álvaro Cogollo* y se encuentra en el jardín botánico "Joaquín Antonio Uribe" de la ciudad de Medellín, Colombia (JAUM 13271).

Obtención de los extractos

El material vegetal fresco se secó al aire y a temperatura ambiente (c.a. 25°) y luego se pulverizó (171,02 g de tallos). Posteriormente, se desengrasó y se sometió a percolación con diclorometano y metanol hasta agotamiento, a temperatura ambiente (25 °C). Los extractos obtenidos fueron sometidos a rotovaporación hasta obtener 2,75 g de extracto bruto diclorometano (rendimiento 1,61 %) y 9,73 g extracto metanólico (rendimiento 5,68 %). El fraccionamiento del extracto metanólico se realizó mediante cromatografía en columna (sílice gel) bajo presión (*flash chromatography*); se eluyó con una mezcla de hexano:diclorometano (1:1), diclorometano:metanol (99:1, 97:3, 95:5 y 9:1) y se obtuvieron 2 fracciones activas (0,0908 g y 0,0331 g), las cuales se recombinaron y se sometieron nuevamente a cromatografía en columna y cromatografía preparativa, hasta la obtención de 2 compuestos a-peltatina (0,0314 g, rendimiento $5,41 \times 10^{-3}$ %) y b-peltatina (0,0302 g, rendimiento $5,20 \times 10^{-3}$ %).

Ensayo de DPPH· (DPPH·, 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

La capacidad antioxidante de cada fracción en diferentes concentraciones se determinó de acuerdo con la metodología descrita por *Puertas-Mejía* y otros,¹¹ con algunas modificaciones y la concentración efectiva (EC₅₀) a la cual 50 % de DPPH· fue removido, se expresó como kg extracto/mmol DPPH·, basada en la ecuación siguiente:

$$EC_{50} = \text{concentración de la muestra en el estado estacionario} / \text{concentración de DPPH·}_{t=0}$$

En síntesis, una alícuota (0,01 mL) de cada muestra (con la dilución necesaria) se adicionó a 1,0 mL de una solución etanólica de DPPH· (102,6 µM). Inmediatamente, se midió la absorbancia a 514 nm y luego cada 15 s los primeros 2 min, después, cada 30 s hasta los 5 min, y por último, en intervalos de 1 min hasta la obtención del estado estacionario, en la reacción o una disminución en la absorbancia menor que 10 %. La concentración inicial exacta del DPPH· en el medio de reacción se determinó mediante una curva de calibración de soluciones de DPPH· (0,663 a 132,7 µM) medidas a 514 nm. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Con la finalidad de evaluar la sensibilidad del método, se usaron sustancias de referencia (ácido ascórbico, BHT (3,5-di-tert-butil-4-hidroxitolueno) y BHA (*tert*-butil hidroxianisol)) en diferentes concentraciones (entre 1 y 15 g/L), en dependencia de la actividad de estas sustancias.

Caracterización química

Los espectros IR fueron obtenidos en un espectrofotómetro Perkin Elmer (RX I FT-IR). Los espectros de ¹H-RMN (400 MHz) y ¹³C-RMN (100 MHz) se realizaron en CDCl₃, y en un espectrómetro Bruker AMX 400, usando tetrametilsilano (TMS) como estándar interno.

Análisis estadístico

Los diferentes valores mostrados en las tablas y figuras corresponden al promedio (±) las desviaciones estándares de 3 mediciones en paralelo. Los datos de la EC₅₀ fueron calculados a partir de curvas de

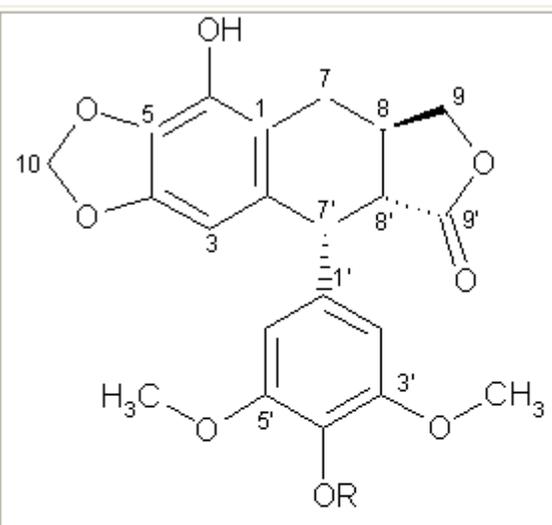
calibración.

RESULTADOS

La α -peltatina se aisló como un sólido color blanco; su espectro de infrarrojo mostró bandas de absorción en 3406, 2927, y 1761, cm^{-1} . El espectro ^{13}C -RMN, presentó 19 señales, 13 vinculadas a los grupos CH_2/C y 6 a los grupos CH_3/CH . Por otro lado, el espectro ^1H -RMN mostró características para un compuesto tipo ciclolignano con las señales siguientes: d_{H} 2,50 (1H, m), d_{H} 2,68 (2H, s), d_{H} 3,20 (1H, dd), d_{H} 3,78 (6H, s), d_{H} 3,94 (1H, m), d_{H} 4,46 (1H, dd), d_{H} 4,59 (1H, d), d_{H} 5,94 (2H, d), d_{H} 6,22 (1H, s), d_{H} 6,36 (2H, s). Adicionalmente, mediante los espectros HSQC, H-H COSY y HMBC se elucidó la estructura final para la α -peltatina (tabla 1). Por otro lado, la elucidación estructural de la β -peltatina, además de las señales presentes en los espectros RMN de la α -peltatina, presentó una señal adicional en d_{H} 3,80 (3H, s) correspondiente a la sustitución del hidrógeno del grupo hidroxilo del carbono en d_{C} 136,25 ppm, por un grupo metilo. En la tabla 1 se indican las correlaciones ^1H - ^{13}C para estos compuestos.

Tabla 1. Datos de correlación ^1H - ^{13}C en resonancia magnética nuclear para los compuestos asilados e identificados en los tallos de *Polygala* sp.

Núcleo	δ_{H} , (ppm)	δ_{C} , (ppm)
1	-	118,05
2	-	137,05
3	6,23	103,48
4	-	147,18
5	-	131,77
6	-	136,77
7	2,51 3,21	29,87
7'	4,59	43,83
8	2,70	32,20
8'	2,70	47,36
9	3,99 4,49	72,34
9'	-	175,06
10	5,94	101,58
1'	-	132,89
2', 6'	6,36	108,25
3', 5'	-	152,49
4'	-	136,25
CH_3^1	3,75	56,26
CH_3^2	3,80	60,74

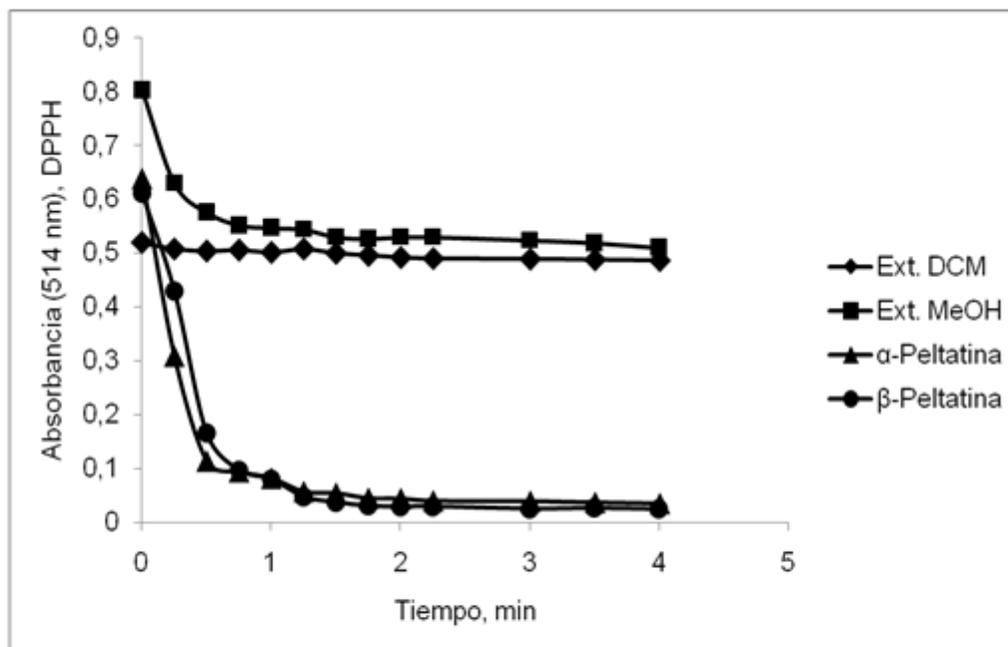


R= H: α -Peltatina
R= CH_3 : β -Peltatina

¹Del grupo metoxi en posiciones 3' y 5' para α -peltatina y β peltatina.

²Del grupo metoxi en posición 4' de la β peltatina.

En la figura se muestra el estado estacionario de la reacción entre el DPPH \cdot y los distintos extractos, los compuestos aislados y caracterizados; cada uno muestra diferente cinética de reacción. Se puede observar que durante los primeros 2 min, la reacción entre el extracto y el radical DPPH \cdot fue rápida y luego se mantuvo constante. En la tabla 2 se presentan los datos de EC_{50} (entre 191,5 y 3,7 ppm) para cada sustancia evaluada.



Ext.: extracto, DCM: diclorometano, MeOH: metanol, DPPH: 2-2-difenil-1-picrylhidrazil.

Fig. Estados estacionarios determinados para los extractos y compuestos aislados de los tallos de *Polygala* sp.

Tabla 2. Actividad antiradicalaria de los tallos de *Polygala* sp. comparada con sustancias de referencia, mediante el ensayo de DPPH

Muestra	EC ₅₀ ppm
Extracto DCM	191,5 ± 4,2
Extracto MeOH	14,5 ± 1,2
α-peltatina	6,2 ± 0,1
β-peltatina	3,7 ± 0,1
BHA	7,1 ± 0,6
BHT	13,4 ± 1,1
Ácido ascórbico	3,9 ± 0,7

BHT: 3,5-di-tert-butil-4-hidroxitolueno; BHA: *tert*-butil hidroxianisol; DCM: diclorometano.

DISCUSIÓN

El efecto protector del extracto metanólico puede atribuirse, en forma parcial, a la presencia de algunos compuestos fenólicos, cuya actividad antioxidante puede ser incrementada por la presencia de otros componentes no fenólicos en el extracto; por ejemplo, se ha demostrado que el carvacrol y el timol, reconocidas sustancias con propiedades antioxidantes, cuando se encuentran en una relación 1:1, la actividad se ve aumentada en 23 y 26 %.¹² La sinergia mostrada en el extracto fue negativa, porque la capacidad antioxidante de la α-peltatina y la β-peltatina individuales es mayor comparada con la actividad del extracto metanólico (tabla 2).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Química de Plantas Colombianas de la Universidad de Antioquia (Proyecto: Sostenibilidad CODI 2008). Agradecemos al doctor Álvaro Cogollo por su asistencia técnica. Todos los experimentos fueron realizados bajo las normas y leyes colombianas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vardar-Ünlü G, Candan F, Sökmen A, Daferera D, Polissiou M, Sökmen M, et al. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. var. *pectinatus* (Lamiaceae). *J Agric Food Chem.* 2003;51:63-7.
2. Nakagawa T, Yokozawa T, Terasawa K, Shu S, Juneja LR. Protective activity of green tea against free radical- and glucose-mediated protein damage. *J Agric Food Chem.* 2002;50:2418-22.
3. Bub A, Watzl B, Blockhaus M, Briviba K, Liegibel U, Müller H, et al. Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *J Nutr Biochem.* 2003;14:90-8.
4. Gentry AH. A field guide to the families and genera of woody plants of Northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru) with supplementary notes on herbaceous taxa. University of Chicago Press; 1996. p. 689-93.
5. Carvellati R, Rinaldo G, Innocenti G, Dall'Acqua S, Costa S, Sartini E. Polyphenols from *Polygala* spp. and antioxidant activity. *Chem Biodiversity.* 2004;1(3):415-25.
6. Hamburger M, Gupta M, Hostettmann K. Coumarins from *Polygala paniculata*. *Planta Medica.* 1985;3:215-7.
7. De campos ROP, Santos ARS, Vaz ZR, Pinheiro TR, Pizzolatti MG, Filho CV, et al. Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract and preliminary study of a xanthone isolated from *Polygala cyparissias* (Polygalaceae). *Life Sci.* 1997;61:1619-30.
8. Kako M, Miura T, Nishiyama Y, Ichimaru M, Moriyasu M, Kato A. Hypoglycemic effect of rhizomes of *Polygala senega* in normal and diabetic mice and its main component, the triterpenoid glycosides senegin-II. *Planta Medica.* 1996;62(5):440-3.
9. Mahmood N, Moore PS, De Tommasi N, De Simone F, Colman S, Hay AJ, et al. Inhibition of HIV infection by caffeoylquinic acid derivatives. *Antiviral Chem Chemotherapy.* 1993;4(4):235-40.
10. Andrade CH, Fo RB, Gottlieb OR, Silveira ER. The chemistry of brazilian polygalaceae. I. Xanthenes from *Polygala spectabilis*. *Lloydia.* 1977;40(4):344-6.
11. Puertas-Mejía MA, Gómez-Chabala L, Rojano B, Sáez-Vega JA. Capacidad antioxidante in vitro de fracciones de hojas de *Piper peltatum* L. *Rev Cubana Plantas Med.* 2009;14(2):1-11.
12. Puertas-Mejía M, Hillebrand S, Stashenko E, Winterhalter P. In Vitro radical scavenging activity of essential oils from columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. *Flavour Fragr J.* 2002;17:380-4.

Recibido: 14 de agosto de 2009.
Aprobado: 28 de agosto de 2009.

Dr. *Miguel A. Puertas-Mejía*. Instituto de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Antioquia. A.A. 1226, Medellín, Colombia. Teléf.: +57(4) 219 5653; Fax +57(4) 233 0120. Correo electrónico: mpuertas@exactas.udea.edu.co