

Valoración del potencial antioxidante de *Mollinedia racemosa* (romadizo)

Assessment of antioxidant potential of *Mollinedia racemosa* (romadizo)

José Fernando Solanilla Duque,^I Oscar Lombo,^{II} Elizabeth Murillo Perea,^{III} Jonh Jairo Méndez Arteaga^{IV}

^I Doctor en Ciencia y Tecnología en coloides e interfaces. Profesor Asociado. Investigador Adscrito. Grupo de Investigación CEDAGRITOL. Departamento de Producción y Sanidad Vegetal. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

^{II} Investigador Adscrito. COLCIENCIAS. Grupo de Investigación GIPRONUT. Departamento de Química. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

^{III} Máster en Ciencias Químicas. Profesor Titular. Investigador Adscrito. Grupo de Investigación GIPRONUT. Departamento de Química. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

^{IV} Doctor en Ciencias Químicas. Profesor Asociado. Investigador Adscrit. Grupo de Investigación GIPRONUT. Departamento de Química. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

RESUMEN

Introducción: *Mollinedia racemosa* (Schltdl.) Tul. (romadizo), es una especie usada por grupos indígenas y comunidades campesinas de la cuenca del Orinoco colombiano, empleada para tratar fiebres, dolores de cabeza y problemas de estómago, especialmente en el tratamiento del resfriado y como analgésico.

Objetivo: evaluar el potencial antioxidante de las hojas de *M. racemosa* (romadizo).

Métodos: se preparó un macerado etanólico de hojas (relación 1:15, vegetal/solvente), renovando el solvente cada 24 h hasta agotar la muestra. El extracto se filtró, se concentró a presión reducida y se almacenó (4 °C). Se valoró el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y de flavonoles totales. Se estableció además la concentración de alcaloides que posee la planta. Asimismo, se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* del vegetal midiendo la capacidad del extracto etanólico para estabilizar radicales DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil) y ABTS (ácido 2,2'azinobis-[3 etilbenzotiazolina]-6-sulfónico), y la potencialidad para inhibir la peroxidación de un sistema lipídico.

Resultados: el potencial antioxidante de *M. racemosa* mostró dependencia de la concentración aplicada, que a su vez está correlacionada con la diversidad y cantidad de constituyentes de naturaleza fenólica del vegetal. Concentraciones de 14,59 µg/mL y 17,32 µg/mL se requieren para inhibir 50 % de la cantidad original utilizada de DPPH y ABTS, respectivamente. La actividad inhibitoria de la peroxidación lipídica alcanzó su máxima capacidad a las 360 h (15 d).

Conclusiones: los resultados obtenidos permiten concluir que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *M. racemosa* posee un efecto antioxidante y protector de un sistema lipídico.

Palabras clave: *Mollinedia racemosa*, actividad antioxidante, DPPH, ABTS, peroxidación lipídica, compuestos fenólicos.

ABSTRACT

Introduction: *Mollinedia racemosa* (Schltdl.) Tul. (romadizo), is one species used by indigenous and peasant communities in the Colombian Orinoco basin, to treat fever, headache and stomach problems, especially in the treatment of cold and as an analgesic.

Objective: to evaluate the antioxidant potential of *M. racemosa* (romadizo) leaves.

Methods: ethanolic macerate of leaves was prepared (ratio 1:15, plant/solvent), changing the solvent every 24 h until the sample was exhausted. The extract was filtered, concentrated under reduced pressure and stored (4°C). The content of phenolic compounds, flavonoids and total flavonols were assessed. The concentration of alkaloids of this plant was also established. Additionally, the *in vitro* antioxidant activity of plant was determined by measuring the ability of ethanol to stabilize radicals DPPH1 (1-diphenil-2-picrilhydracil) and ABTS (2,2'azinobis-[3 etilbenzotiazolin]-6-sulphonic acid) and the potential to inhibit lipid peroxidation.

Results: the antioxidant potential of this plant depended on the applied concentration that in turn was correlated to the diversity and quantity of phenols present in the plant. Concentration rates of 14.59 and 17.32 µg/mL were required to inhibit 50 % (IC₅₀) of the original quantity of DPHH and ABTS respectively. The inhibitory capacity of lipidic peroxidation reached its maximum level after 360 hours (15 days).

Conclusions: the results showed that the extract from *M. racemosa* leaves had antioxidant and protective effect in a lipidic system.

Key words: *Mollinedia racemosa*, antioxidant activity, DPPH, ABTS, lipid peroxidation, phenolic compounds.

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de fuentes medicinales naturales para el tratamiento de diferentes enfermedades y el control de reacciones químicas en los alimentos que incrementen su vida útil, ha despertado gran interés en la comunidad científica en los años recientes.^{1,2} Numerosos trabajos reportan pruebas del efecto antioxidante de extractos vegetales con potencial estabilizador y(o) inhibitorio de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno generados en el cuerpo humano, pero que pueden provocar daños orgánicos asociados a varias enfermedades degenerativas, como la

aterosclerosis, enfermedades coronarias, envejecimiento y algunos tipos de cáncer.³

Otros estudios reconocen la asociación existente entre los antioxidantes de origen vegetal y la disminución de la morbilidad y mortalidad por enfermedades, como las mencionadas anteriormente.^{4,5} A lo anterior se agrega que los antioxidantes sintéticos (BHA y BHT, por ejemplo) son cuestionados por su riesgo potencial de toxicidad para la salud.^{2,6} Por el contrario, el uso de los productos naturales vegetales para tratar enfermedades tiene un mayor interés en la población, como consecuencia de su buena actuación terapéutica y baja toxicidad.^{2,7} Encontrar nuevas fuentes de antioxidantes seguras de origen natural es de vital importancia a nivel farmacológico y alimentario.

En este trabajo los autores se propusieron evaluar algunas de las características químicas y el poder antioxidante del extracto obtenido a partir de las hojas de la planta de romadizo, buscando con ello profundizar en el conocimiento científico de la familia Monimiaceae en Colombia, en particular de la especie *Mollinedia racemosa* (Schltdl.) Tul., para correlacionar la presencia de algunos de sus constituyentes químicos con propiedades bioactivas y dar soporte científico al uso etnomédico dado por las comunidades populares de la Orinoquia colombiana y, a la vez, sacar del anonimato científico a esta especie vegetal.

MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal se colectó en una zona boscosa de la franja suburbana de Yopal-Casanare (28-30 °C, 313 m sobre el nivel del mar, precipitación pluvial 1 500-2 500 mm). Un ejemplar fue enviado al Herbario Nacional de la Universidad Nacional de Colombia para su determinación taxonómica y depositado con el número de colección 530879.⁸ El estudio se realizó con la parte aérea del vegetal (hojas), en óptimo estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario. El secado se realizó en bandejas a temperatura ambiente (27 ± 2 °C). La obtención del extracto se preparó a través de un macerado etanólico (relación 1:15, vegetal/solvente), renovando el solvente cada 24 h hasta agotar la muestra. El extracto se filtró, se concentró a presión reducida y se almacenó (4 °C) hasta su utilización.

Tamizaje fitoquímico

Se realizó mediante ensayos cualitativos individuales para cada grupo químico^{9,10} y aplicando la metodología clásica de fraccionamiento por polaridad de solvente.¹¹ Los ensayos a la gota se verificaron con cromatografía de capa delgada.¹² El nivel de fenoles totales (FT) se evaluó mediante el método de *Folin-Ciocalteu*, empleando ácido fosfomolibdico como complejo para desarrollar color.¹³ Para la cuantificación de taninos se aplicó un método espectrofotométrico que constó de 2 etapas: en la primera de ellas se cuantificaron los polifenoles totales en el extracto y en la segunda se determinaron los polifenoles residuales después del secuestro de los taninos con gelatina.^{14,15} Los taninos que precipitaron proteínas (condensados) se cuantificaron a través del ensayo de albúmina de suero bovino.^{16,17} Para determinar el contenido de alcaloides totales se alcalinizó la muestra, las bases alcaloidales formadas se solubilizaron en un solvente orgánico y a continuación se aplicó un método espectrofotométrico, comparando la lectura de absorbancia a 450 nm en una curva de calibrado preparada con morfina.^{18,19}

Capacidad antioxidante

Se utilizaron los métodos DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil), ABTS (ácido 2,2'azinobis-[3 etilbenzotiazolina]-6- sulfónico) y capacidad protectora de un sistema lipídico.

El DPPH es uno de los pocos radicales orgánicos nitrogenados estables disponibles comercialmente. Su reducción hace que el color de su solución se desvanezca, comportamiento que es aprovechado para monitorear el progreso de la reacción a través de un espectrofotómetro UV-VIS. Este procedimiento es de uso frecuente para medir la actividad antioxidante de extractos vegetales.²⁰ La capacidad antioxidante de *M. racemosa* para estabilizar el radical DPPH se determinó mezclando una alícuota del extracto etanólico preparado a diferentes concentraciones (10-100 µg/mL), con la solución del radical (1:3, extracto/radical). Después de 20 min de incubación, la absorbancia del radical no decolorado se leyó a 517 nm.²¹ El porcentaje de degradación del color violeta de las muestras y patrones de referencia (ácido ascórbico, AA, y BHT) fue determinado mediante la ecuación:

$$[\text{Abs. DPPH} - \text{Abs. Muestra} / \text{Abs. DPPH}] \times 100$$

La CI₅₀ se calculó como una reducción de 50 % de la cantidad inicial utilizada del radical.

El radical ABTS posee una solubilidad alta en agua y buena estabilidad química. Cuando se oxida por la remoción de un electrón, el ABTS genera cationes radicales metaestables, con un espectro de absorción característico y una alta absorptividad molar en 414 nm. En la reacción entre el catión-radical ABTS^{•+} y la sustancia antioxidante, la especie que contiene el radical es neutralizada por la ganancia de un electrón. En consecuencia, la desaparición del catión-radical ABTS^{•+} puede ser estimada por la disminución de la absorbancia.^{22,23}

Para medir la actividad antirradical de *M. racemosa* frente al radical ABTS^{•+} se aplicó la metodología descrita por *Iqbal*.⁶ El radical se formó tras la reacción del ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente y en oscuridad (16 h). Una vez formado el radical ABTS^{•+} se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia de 0,700 ± 0,100 a 754 nm (longitud de máxima absorción). A 980 µL de la dilución del radical ABTS^{•+} ya generado se le determinó la A₇₅₄ (27 °C), se añadieron 20 µL de la muestra (preparada entre 10 y 100 µg/mL), y se midió de nuevo la A₇₅₄ pasados 7 min. La actividad antirradical se calculó a través de la fórmula siguiente:

$$[\text{Abs. ABTS} - \text{Abs. Muestra} / \text{Abs. ABTS}] \times 100$$

La CI₅₀ se calculó como una reducción de 50 % de la cantidad inicial utilizada del radical.

La capacidad protectora antioxidante de un sistema lipídico se determinó mediante el método descrito por *Iqbal*.²⁴ El extracto preparado a diferentes concentraciones (0,1; 0,5 y 1,0 %), se le añadió una mezcla de solución de ácido linoleico (0,13 mL), etanol 10 mL al 99,8 % y 10 mL de una solución tampón de fosfato de sodio (pH 7,0; 0,2 mM). El volumen total se ajustó a 25 mL con agua destilada. La

solución se incubó a diferentes tiempos (0, 5, 10, 15 y 20 d) y a una temperatura de 40 °C.

El grado de oxidación se midió según el método del tiocianato (SCN^-),²⁴ con 5 mL de etanol (75 %), 0,1 mL de una solución acuosa de tiocianato de amonio (30 %), 0,1 mL de solución de la muestra y 0,1 mL de cloruro ferroso (FeCl_2) en 20 mM de HCl al 3,5 %. Las lecturas se hicieron después de 3 min de agitación, los valores de absorción de la mezcla se midieron a 500 nm, lo que se interpreta como contenido de peróxido. Se realizaron controles negativos con el ácido linoleico, pero sin los extractos, y como controles positivos, antioxidantes sintéticos (BHT y ácido ascórbico, AA). El porcentaje de inhibición de la peroxidación del ácido linoleico por parte del extracto, se calculó mediante la ecuación:

$$100 - [(\Delta_{\text{abs}} \text{ muestra } t_f / \Delta_{\text{abs}} \text{ control } t_f)] \times 100$$

donde t_f es el tiempo final a diferentes días de incubación (20 d).^{2,6}

Todos los resultados son expresados como la media \pm DE (n= 3). El análisis de regresión lineal se efectuó para calcular la relación dosis-respuesta de las soluciones estándares utilizadas y de las muestras analizadas. El grado de correlación entre las variables se expresó a través del coeficiente de correlación r^{xy} .

RESULTADOS

Tamizaje fitoquímico

Las hojas secas de *M. racemosa* mostraron abundante contenido en compuestos fenólicos: taninos, flavonoides y fenilpropanoides. El análisis mostró además la presencia de terpenos, esteroides y carbohidratos de tipo reductor. Todos los ensayos realizados para reconocer el núcleo alcaloidal fueron positivos, confirmándose su presencia a través de cromatografía de capa delgada. La marcha sistemática de *Bandford*, constituida por una serie de pruebas clásicas para el reconocimiento específico de algunos tipos de alcaloides, permitió ver que el extracto de *M. racemosa* posee alcaloides de tipo morfeólico, como morfina (analgésico utilizado en el tratamiento de dolores agudos), codeína, papaverina, noscapina, entre otros, y del grupo de las anfetaminas y derivados. En la tabla se reportan los valores determinados para algunos de los constituyentes químicos de *M. racemosa*.

Tabla. Contenido de algunos metabolitos secundarios de *Mollinedia racemosa*

Metabolito	Contenido (mg/g)
Fenoles totales	360 ¹ ± 0,02
Polifenoles totales	41,4 ² ± 0,01
Polifenoles no tanoides	0,7 ² ± 0,015
Taninos totales	40,3 ² ± 0,01
Taninos condensados	25,1 ² ± 0,1
Taninos hidrolizables	15,2 ² ± 0,1
Alcaloides totales	27,6 ³ ± 0,2

¹: mg equivalentes de ácido gálico por gramo de vegetal seco, ²: mg equivalentes de ácido tánico por gramo de vegetal seco, ³: mg equivalentes de morfina por gramo de vegetal seco.

Sobre la base de las pruebas realizadas en el análisis cualitativo aplicado a *M. racemosa* se procedió a cuantificar algunos de los metabolitos detectados, con el propósito de profundizar en el conocimiento fitoquímico de la planta y asociar el tipo de compuesto encontrado y su nivel de concentración con la bioactividad manifestada por el extracto de la planta.

Capacidad antioxidante

En la figura 1 se ilustra en forma comparativa, el comportamiento inhibitorio del catión radical DPPH y ABTS. Dado que la cinética entre el radical DPPH^{•+} y la concentración de los antioxidantes no es lineal, resulta conveniente expresar la actividad como CI₅₀.

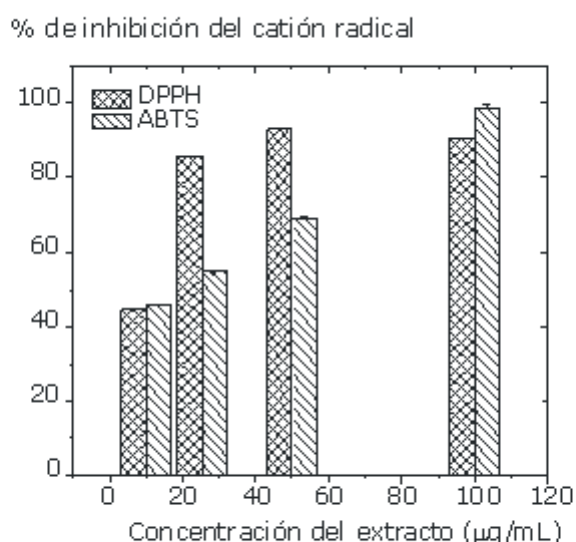


Fig. 1. Actividad antioxidante del extracto de *Mollinedia racemosa* frente al DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil) y ABTS (ácido 2,2'azinobis-[3 etilbenzotiazolina]-6-sulfónico).

En este estudio el valor determinado para este parámetro fue $14,59 \pm 0,011 \mu\text{g/mL}$ frente al DPPH⁺ y $17,32 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ frente al ABTS⁺, aunque estos valores parecen estar muy distantes del obtenido para el BHT ($5,5 \pm 0,140 \mu\text{g/mL}$), no obstante son cercanos al del AA ($10,48 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$), dos sustancias utilizadas como referentes en el presente trabajo por su amplia aceptación como antioxidantes a nivel alimentario y farmacológico.

El potencial antioxidante del extracto de *M. racemosa* se complementó valorando su capacidad para inhibir la oxidación del ácido linoleico (18:2 ω 9,12). En este método, se observó que el extracto de *M. racemosa* inhibió la peroxidación del ácido linoleico entre 52,76 y 74,07 %, lo cual evidenció la máxima potencialidad a las 360 h (15 d). Esta actividad resultó ser dependiente de la concentración aplicada.

En la figura 2 se muestra que al inicio del proceso las muestras hacen dos grandes grupos: el menos activo constituido por el AA y el extracto de *M. racemosa* preparado a la más baja concentración (0,1 %); aunque las restantes muestras fueron más activas que las antes mencionadas, no por ello superaron 10 % de su capacidad antioxidante. Asimismo, esta evaluación deja ver además, que la diferenciación entre la actividad de las muestras fue haciéndose cada vez más evidente, a las 360 h. El AA se muestra como el más activo aunque sin diferenciarse significativamente ($p > 0,05$) del BHT y del extracto de *M. racemosa* preparado a 0,5 y 1,0 %.

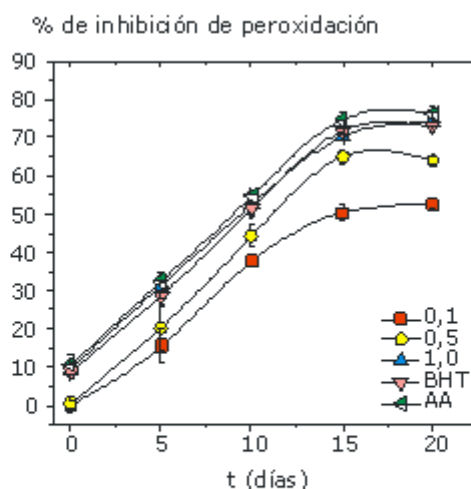


Fig. 2. Evaluación de la actividad antioxidante de un sistema de ácido linoleico, determinada mediante el método de tiocianato.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio resultan concordantes con las observaciones anotadas por Leitão,²⁵ para especies de la familia Monimiaceae, los que a su vez podrían dar soporte a las aplicaciones etnomédicas de *M. racemosa*. Estudiar extractos vegetales resulta de particular importancia teniendo en cuenta que aportan fitocompuestos con diversidad de bioactividades, entre ellas la antioxidante, a lo que se adiciona su origen natural. Todo lo anterior resulta beneficioso para la salud en humanos y animales.^{26,27} En este sentido, el número de

investigadores dedicados a indagar sobre este tema es voluminoso y se incrementa cada día más.^{28,29}

Borneo y otros,³⁰ estudiaron 41 plantas medicinales de la provincia de Córdoba (Argentina) por su contenido fenólico y actividad antioxidante; los resultados arrojaron valores de fenoles comprendidos entre 8,2 y 100,2 mg EAG/g (mg equivalentes de ácido gálico por gramo de material vegetal). Sobre la base de los resultados obtenidos, estos investigadores proponen un futuro promisorio para las plantas estudiadas como fuente de antioxidantes. Comparando estos resultados con los reportados en la tabla 1 se puede pronosticar para *M. racemosa* su uso potencial en la industria, sobre la base de una evidente diversidad de metabolitos secundarios con potencial antioxidante y(o) farmacológico.

Adicionalmente, en la tabla 1 se observa que solo 12 % de los fenoles totales son de naturaleza polifenólica, 11 % son de naturaleza tanoide y más de 50 % son de tipo condensado. De esta forma, *M. racemosa* manifestaría no solo poder para reducir radicales libres, y así estabilizarlos, sino que además actuaría como quelante de metales a través de los taninos condensados, lo cual incrementaría su acción como antioxidante. Importa mencionar que el potencial antioxidante de *M. racemosa* es derivado, al menos en parte, de los compuestos de bajo peso molecular, por ejemplo, flavonoides y fenilpropanoides.

El radical DPPH tras recibir el protón de cualquier donador de hidrógeno, principalmente fenoles, pierde el cromóforo y adquiere una tonalidad amarilla.³¹ En la medida que la concentración de compuestos fenólicos o grado de hidroxilación de estos aumenta, la capacidad de eliminación del radical DPPH se incrementa, y con ella la actividad antioxidante.⁶ A diferencia de otros radicales producidos en el laboratorio, como el hidroxilo y el anión superóxido, el DPPH tiene la ventaja de que no es afectado por iones quelantes de metales y por enzimas de inhibición.³² Por su parte, el radical sintético ABTS^{•+} es utilizado para probar extractos vegetales altamente coloreados, teniendo en cuenta su máxima absorbancia a 734 nm; donde muchos de los productos vegetales no absorben a esa longitud de onda, lo cual reduce las posibilidades de interferencias de compuestos que absorben en la región del visible o resultantes de reacciones secundarias; además puede aplicarse tanto a un sistema hidrofílico como lipofílico.

Se observó que el radical ABTS^{•+} es inhibido en mayor grado en la medida que la concentración de los antioxidantes de la planta se incrementa, lo que no sucede con el radical DPPH. Lo anterior puede ser consecuencia de la interferencia generada por los diferentes compuestos del extracto vegetal sobre el color del DPPH.²²

Tal efecto, podría evidenciarse a concentraciones altas y, en consecuencia, presentarse una disminución en el porcentaje de inhibición del DPPH^{•+}. Un ejemplo lo constituye el contenido de clorofila de los extractos, compuesto este que presenta absorbancias máximas entre 400 y 700 nm,³³ que interfiere en consecuencia con el cromógeno DPPH, con máximos de absorción entre 515 y 528 nm. Al incrementarse el nivel de concentración del extracto aumentaría también la interferencia, dando lugar quizá a una medida de actividad relativamente baja.³⁴ El cromógeno ABTS^{•+}, por su parte, tiene varias bandas de absorción entre 380 y 850 nm,^{22,34} por lo tanto, la absorción que puedan presentar los extractos a mayor concentración podría eliminar la interferencia del color.

Se han propuesto algunos mecanismos para explicar la acción de los compuestos fenólicos como antioxidantes. Uno de ellos ha sido planteado por *Ramírez-Anguiano* y otros.³⁵ De acuerdo con estos investigadores, la oxidación de difenoles a quininas es una reacción muy rápida que puede ocurrir en segundos. Incluso cuando solo

unas pocas quinonas son formadas antes de la preparación del extracto, ellas se convierten a compuestos de bajo peso molecular, con lo cual podrían reaccionar de modo espontáneo con otros fenoles y generar compuestos indólicos, dímeros del catecol y otros polímeros de mayor peso que forman radicales capaces de rescatar productos de degradación. Se podría entonces pensar que la actividad antioxidante de *M. racemosa* está soportada en gran medida por los fitofenoles que posee, actuando con sinergia otros compuestos de bajo peso molecular presentes en el vegetal. Esto explicaría los valores relativamente bajos de las CI_{50} determinados. Otros autores, que han trabajado con extractos vegetales, han reportado valores mucho más altos.²⁸

La actividad antioxidante de los materiales vegetales ha sido correlacionada con el contenido fenólico total.^{1,28,36} Flavonoides, ácidos fenólicos y taninos son considerados como los mayores contribuyentes a la capacidad antioxidante de las plantas. Estos antioxidantes también poseen otras propiedades bioactivas como antiinflamatorios, antiaterosclerótica, anticarcinogénica, entre otras. Estas funcionalidades pueden estar asociadas a su actividad antioxidante.³⁶ Se ha sugerido también que los compuestos polifenólicos poseen efecto inhibitorio sobre la mutagénesis y carcinogénesis en humanos, cuando 1,0 g es ingerido a través de la dieta diaria rica en frutas y vegetales.³⁷ Todo lo anterior se constituye en una razón más por la cual se evaluó el contenido fenólico total en esta especie.

Por otro lado, los alcaloides constituyen un gran grupo de metabolitos secundarios de carácter básico con uno o varios átomos de nitrógeno, que por lo general, están incorporados en una estructura cíclica; a menudo presentan actividades fisiológicas dramáticas, de ahí su amplio uso en medicina.³⁸ Se ha reconocido que alcaloides y flavonoides muestran actividad antioxidante, y que sus efectos sobre la salud y la nutrición humana es considerable.³⁹ Para algunos autores el mecanismo de acción de los alcaloides se efectúa a través de la inhibición de la peroxidación.⁴⁰ El contenido del átomo de nitrógeno convierte a la mayoría de los alcaloides en compuestos capaces de donar electrones y, en consecuencia, capturar radicales libres. Si la molécula del alcaloide contiene grupos funcionales adyacentes que cedan electrones, como por ejemplo los grupos alquilo, la disponibilidad de los electrones del átomo de nitrógeno aumenta. De esta forma, se puede afirmar que la acción conjunta de fitofenoles y alcaloides contenidos en *M. racemosa* dan soporte a la actividad antirradical manifestada por el vegetal, con una CI_{50} muy cercana a la del ácido ascórbico, de amplio reconocimiento como antioxidante en el organismo humano y a nivel de los alimentos. Adicionalmente, existen reportes relacionados con la actividad de los alcaloides como antitusivos, anestésicos, antinociceptivos, estimulantes, analgésicos y con acción narcótica.^{41,42}

Puesto que los mayores constituyentes de las membranas biológicas son los lípidos y las proteínas, la funcionalidad de las membranas se incrementa en función de la cantidad de proteínas; no obstante, las especies reactivas del oxígeno pueden fácilmente degradar los constituyentes de las membranas celulares y provocar daño a compuestos como fosfolípidos y lipoproteínas durante la etapa de propagación de la peroxidación.⁴³ Los fitofenoles parecen también tener un papel importante en la estabilización de la oxidación lipídica. En este estudio se obtuvieron inhibiciones entre 52,76 y 74,07 %, porcentajes que si bien son altos, resultan menores que los reportados en otros estudios,^{2,44} donde se trabajó con extractos vegetales y resultados entre 64,8 y 96,4 %.

Los productos naturales, como extractos de plantas, compuestos puros o extractos estandarizados, proporcionan oportunidades ilimitadas para el hallazgo de nuevos fármacos, teniendo en cuenta la diversidad química incomparable que poseen. De otra parte, estudiar compuestos de origen natural y establecer su biofuncionalidad, se considera de importancia relevante para la salud humana. Varias plantas han

resultado ser fuente importante de un número de fitocompuestos y metabolitos secundarios, por lo que parece razonable pensar que agentes hasta ahora no descubiertos, pueden ser obtenidos a partir de especies vegetales desconocidas por el mundo científico, como es el caso del romadizo (*M. racemosa*). Los resultados obtenidos en este estudio son prometedores e insinuantes de que el extracto de la planta podría encontrar aplicación en el tratamiento de enfermedades asociadas al estrés oxidativo o bien en la industria de productos nutracéuticos y alimentos funcionales, entre otras.

En el presente trabajo se demuestra que la especie *M. racemosa* posee compuestos químicos con capacidad para estabilizar radicales libres y potencialidad para inhibir la peroxidación lipídica. Esta funcionalidad antioxidante parece estar soportada fundamentalmente en la acción conjunta de los fitofenoles que posee, como flavonoides, fenilpropanoides y taninos condensados, además de sus alcaloides tipo morfeólico y del grupo de las anfetaminas. Los resultados obtenidos en esta investigación dan soporte científico al uso popular de romadizo en el tratamiento del resfriado y como analgésico. Asimismo, se hace necesario realizar bioensayos de mayor nivel que involucren extractos de diferente polaridad, así como también el aceite esencial contenido en sus hojas; se debe hacer énfasis en la identificación de los componentes responsables de la actividad antioxidante, cuyas aplicaciones podrían estar orientadas hacia la industria alimentaria o farmacéutica.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Química y a la Oficina de Investigaciones y Desarrollo Científico de la Universidad del Tolima por el apoyo logístico y económico otorgado a esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Li H-B, Wong C-C, Cheng K-W, Chen F. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT - Food Science Technology*. 2008;41(3):385-90.
2. Sultana B, Anwar F, Asi MR, Chatha SAS. Antioxidant potential of extracts from different agro wastes: Stabilization of corn oil. *Grasas y Aceites*. 2008;59:205-17.
3. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000;408(6809):239-47.
4. Eberhardt MV, Lee CY, Liu RH. Nutrition: Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*. 2000;405(6789):903-4.
5. La Vecchia C, Altieri A, Tavani A. Vegetables, fruit, antioxidants and cancer: a review of Italian studies. *European J Nutrition*. 2001;40(6):261-7.
6. Iqbal S, Bhanger MI, Anwar F. Antioxidant properties and components of bran extracts from selected wheat varieties commercially available in Pakistan. *LWT - Food Science Technology*. 2007;40(2):361-7.

7. Li H-B, Cheng K-W, Wong C-C, Fan K-W, Chen F, Jiang Y. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. 2007;102(3):771-6.
8. Lombo O, Murillo E, Mendez JJJ. Química y funcionalidad biológica de romadizo (*Mollinedia* sp.), un recurso de valor etnomédico en la Orinoquía colombiana. Universidad de Salerno. XVIII Congreso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina. Cuba: Sociedad Cubana de Química; 2009. p. 170-1.
9. De Marcano D, Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica. Caracas, Venezuela: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico; 1991.
10. García DE, Medina MG, Domínguez C, Baldizán A, Humbría J, Cova L. Evaluación química de especies no leguminosas con potencial forrajero en el estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Tropical*. 2006;24:401-15.
11. Galindo WF, Rosales M, Murgueitio E, Larrahondo JE. Sustancias antinutricionales en las hojas de guamo, nacedero y matarratón. *Livestock Research Rural Development*; 1989.
12. Ibarra MdJ, Cantú PC, Verde MJ, Oranday A. Caracterización fitoquímica y efecto hipoglucemiante de *Tecoma stans* y su relación con la presencia del cromo como factor de tolerancia a la glucosa. *Información Tecnológica*. 2009;20:55-64.
13. Makkar HPS, Becker K, Sidhuraju P. *Plant Secondary Metabolites*. Totowa, New Jersey: Ed. Humana Press; 2007.
14. Lastra H, Rodríguez E, Ponce de León H, González ML. Método analítico para la cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. *Rev Cubana Plant Med*. 2000;5:17-22.
15. Isaza JH, Veloza LÁ, Guevara CA, Ramírez LS. Estimación espectrofotométrica de taninos hidrolizables y condensados en plantas Melastomatáceas. *Scientia et Technica*. 2007;33:261-6.
16. Hagerman AE, Butler LG. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *J Agricultural Food Chemistry*. 1978;26(4):809-12.
17. Naczki M, Amarowicz R, Zadernowski R, Shahidi F. Protein precipitating capacity of condensed tannins of beach pea, canola hulls, evening primrose and faba bean. *Food Chemistry*. 2001;73(4):467-71.
18. Schoeneberger H, Gross R, Cremer HD, Elmadfa I. Composition and protein quality of *Lupinus mutabilis*. *J Nutrition*. 1982;112(1):70-6.
19. Hatzold T, Elmadfa I, Gross R, Wink M, Hartmann T, Witte L. Quinolizidine alkaloids in seeds of *Lupinus mutabilis*. *J Agricultural Food Chemistry*. 1983;31(5):934-8.
20. Sultana B, Anwar F, Przybylski R. Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. trees. *Food Chemistry*. 2007;104(3):1106-14.

21. Prado ACPd, Aragão AM, Fett R, Block JM. Antioxidant properties of pecan nut (*Carya illinoensis* [Wangenh.] C. Koch) Shell Infusion. *Grasas y Aceites*. 2009;60:330-5.
22. Arnao MB. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends Food Science Technology*. 2000;11(11):419-21.
23. Arnao MB, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*. 2001;73(2):239-44.
24. Iqbal S, Bhangar MI, Anwar F. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry*. 2005;93(2):265-72.
25. Leitão GG, Simas NK, Soares SSV, de Brito APP, Claros BMG, Brito TBM, et al. Chemistry and pharmacology of Monimiaceae: a special focus on Siparuna and Mollinedia. *J Ethnopharmacol*. 1999;65(2):87-102.
26. Langley-Evans SC. Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay. *International J Food Sciences Nutrition*. 2000;51:181-8.
27. Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American J Clinical Nutrition*. 2003;78(3):517-20.
28. She G-M, Xu C, Liu B, Shi R-B. Polyphenolic acids from mint (the Aerial of *Mentha haplocalyx* Briq.) with DPPH radical scavenging activity. *J Food Science*. 2010;75(4):C359-C62.
29. Terpinic P, Abramovic H. A kinetic approach for evaluation of the antioxidant activity of selected phenolic acids. *Food Chemistry*. 2010;121(2):366-71.
30. Borneo R, León AE, Aguirre A, Ribotta P, Cantero JJ. Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Córdoba (Argentina) and their in vitro testing in a model food system. *Food Chemistry*. 2009;112(3):664-70.
31. Sánchez-Moreno C, Larrauri J, Saura-Calixto F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*. 1999;32(6):407-12.
32. Amarowicz R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 2004;84(4):551-62.
33. Wang K-J, Zhang Y-J, Yang C-R. New phenolic constituents from *Balanophora polyandra* with radical-scavenging activity. *Chemistry Biodiversity*. 2006;3(12):1317-24.
34. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science Technology*. 1995;28(1):25-30.
35. Ramírez-Anguiano AC, Santoyo S, Reglero G, Soler-Rivas C. Radical scavenging activities, endogenous oxidative enzymes and total phenols in edible mushrooms commonly consumed in Europe. *J Science Food Agriculture*. 2007;87(12):2272-8.

36. Tung Y-T, Wu J-H, Kuo Y-H, Chang S-T. Antioxidant activities of natural phenolic compounds from *Acacia confusa* bark. *Bioresource Technology*. 2007;98(5):1120-3.
37. Karadeniz F, Burdurlu HS, Koca N, Soyer Y. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish J Agriculture Forestry*. 2005;29:297-303.
38. Harborne JB. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. New York: Springer; 1998.
39. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African J Biotechnology*. 2006;5:1142-5.
40. Kumar PS, Sucheta S, Deepa VS, Selvamani P, Latha S. Antioxidant activity in some selected Indian medicinal plants. *African J Biotechnology*. 2008;7:1826-8.
41. Macko E, Weisbach JA, Douglas B. Some observations on the pharmacology of mitragynine. *Archives Internationales Pharmacodynamie Thérapie*. 1972;198(1):145.
42. Takayama H. Chemistry and pharmacology of analgesic indole alkaloids from the rubiaceous plant, *Mitragyna speciosa*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. 2004;52(8):916-28.
43. Sundararajan R, Haja NA, Venkatesan K, Mukherjee K, Saha BP, Bandyopadhyay A, et al. *Cytisus scoparius* link- A natural antioxidant. *BMC Complementary Alternative Medicine*. 2006;6:8.
44. Moyo M, Ndhlala AR, Finnie JF, Van Staden J. Phenolic composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Sclerocarya birrea* and *Harphephyllum caffrum* (Anacardiaceae) extracts. *Food Chemistry*. 2010;123(1):69-76.

Recibido: 21 de noviembre de 2010.

Aprobado: 14 de marzo de 2011.

José Fernando Solanilla Duque. Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad del Tolima Sede Santa Elena A.A 546 Teléf.: 57 3208478350, Tel-Fax: 57 8 2652530. Correo electrónico: jfsolanilla@ut.edu.co