

## Capacidad antioxidante *in vitro* de comfrey (*Symphytum officinale* L.)

### *In vitro* antioxidant capacity of comfrey (*Symphytum officinale* L.)

Dr. C. Miguel A. Puertas-Mejía, Lic. José F. Zuleta-Montoya, Lic. Félix Rivera-Echeverry

Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** *Symphytum officinale* L. es una hierba perenne de la familia Boraginaceae, de uso medicinal durante muchos años para tratar dolores de articulaciones, músculos, cicatrización de heridas, dolor menstrual, problemas bronquiales, entre otros. Por otro lado, la presencia de polifenoles, triterpenoides y taninos en *S. officinale* L., permite suponer que la especie bajo estudio puede ser una fuente promisoría de extractos con una alta capacidad antioxidante.

**Objetivo:** evaluar el posible potencial antioxidante de los extractos y del aceite esencial de *S. officinale*.

**Métodos:** hojas secas y pulverizadas de *S. officinale* se sometieron a extracciones sucesivas con hexano y etanol hasta agotamiento y el aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación. El potencial antioxidante se determinó de acuerdo con su capacidad de atrapamiento del radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH, 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

**Resultados:** las muestras evaluadas presentaron valores de EC<sub>50</sub> entre 0,06 y 0,44 g muestra/μmol DPPH, similares a extractos naturales como los aceites esenciales de orégano y romero, y de sustancias de referencia como el ácido ascórbico.

**Conclusiones:** las hojas de la planta *S. officinale* mostraron un efecto antioxidante significativo, lo cual refuerza sus propiedades medicinales en la recuperación de tejidos y dolencias musculares, entre otras afecciones.

**Palabras clave:** antioxidantes naturales, comfrey, ensayo DPPH, *S. officinale* L.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** *Symphytum officinale* L., is a perennial plant from Boraginaceae family that has been used in medicine for treatment painful joints and muscles, menstruation pain and bronchial problems in addition to stimulating healing of wounds, among other effects. On the other hand, the presence of polyphenols, triterpenoids and tannins in this specie allows us to think that it could be a promising source of natural compounds with high antioxidant activity.

**Objective:** to evaluate the antioxidant potential of the extracts and the essential oil from *S. officinale*.

**Methods:** dry and powered *S. officinale* leaves underwent successive extractions with ethanol and hexane and the essential oil was obtained by hydrodistillation. The antioxidant potential was determined on the trapping capacity of stable radical 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH assay).

**Results:** the samples showed EC<sub>50</sub> values from 0.06 to 0.44 g sample/ $\mu$ mol DPPH, comparable to natural extracts like the essential oils from oregano and rosemary and to standard substances like ascorbic acid.

**Conclusions:** *S. officinale* leaves showed an important antioxidant effect, and this result support the medicinal properties of the plant in tissue recovery and therapy for muscular pains and others pathologies.

**Key words:** Natural antioxidants, comfrey, DPPH assay, *S. officinale* L.

---

## INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales siempre han sido objeto de estudio. En las 2 últimas décadas, en particular, ha resurgido un renovado interés, sobre todo en lo concerniente al aprovechamiento de sus propiedades terapéuticas, las cuales han aportado un gran valor en la etnomedicina porque han permitido evitar y controlar la proliferación de muchas enfermedades en humanos, especialmente en aquellas comunidades ubicadas en regiones aisladas de los centros urbanos. Esta particularidad aunada con la bioactividad que poseen muchas plantas, presenta una fuente alternativa de compuestos altamente bioactivos, con uso potencial en la industria farmacológica, así como de conservación y preparación de alimentos. Las plantas medicinales tienen múltiples aplicaciones; por ejemplo, una sola planta como el ajo puede servir para más de 20 dolencias, y para una sola dolencia como la fiebre pueden utilizarse más de 100 plantas. Por lo tanto, la búsqueda de nuevas fuentes de sustancias bioactivas preferiblemente con potencial antioxidante, desempeñarían un papel importante en la reducción de las reacciones de degradación oxidativa involucradas en muchas enfermedades de los sistemas biológicos, y también en la rancidez de los alimentos.<sup>1,2</sup>

La efectividad del uso de extractos de plantas medicinales contra diferentes enfermedades ha permitido establecer un efecto cooperativo entre los distintos componentes activos de la planta, que potencian su acción en comparación con los principios activos aislados. La familia de las Boraginaceae, incluye una gran variedad de arbustos, árboles y yerbas, que totalizan unas 2 000 especies en 100 géneros distribuidos por todo el mundo. Esta familia cuenta en Colombia con algunas especies tanto de importancia económica como medicinal, las cuales han

---

sido usadas como diuréticas, desinfectantes, hemostáticas, ornamentales, maderables, y otros.<sup>3</sup> La especie *S. officinale* L. presenta una variedad de compuestos que le han dado un valor significativo en la medicina tradicional como agente bioactivo, tales como los ácidos rosmarínico, clorogénico, triterpenoides, taninos y alantoína;<sup>4-6</sup> también la presencia de alcaloides pirrolizidinos de alta toxicidad.<sup>7,8</sup> Lo anterior permite suponer que la especie bajo estudio puede ser una fuente promisoría de compuestos con una alta capacidad antioxidante, por lo que el objetivo de este trabajo es evaluar esta capacidad en sus extractos y el aceite esencial.

## MÉTODOS

*Material vegetal:* las hojas de *S. officinale* L., fueron adquiridas en el mercado central de la ciudad de Medellín (Colombia). Un espécimen fue depositado en el Herbario de la Universidad de Antioquia (voucher, HUA 173883).

*Obtención de los extractos:* el material vegetal fresco se secó al aire y a temperatura ambiente (c.a. 25 °C), luego se pulverizó (25,0 g de hojas). Posteriormente, se hicieron extracciones sucesivas con hexano y etanol hasta el agotamiento, a temperatura ambiente (25 °C). Los extractos obtenidos se sometieron a rotaevaporación hasta obtener 0,162 g de extracto bruto hexano (rendimiento 0,65 %) y 0,671 g de extracto etanólico (rendimiento 2,68 %).

*Extracción del aceite esencial:* se hizo mediante hidrodestilación durante aproximadamente 3 h. El aceite esencial se extrajo una única vez, se guardó en frasco ámbar estéril hasta la realización de los análisis por cromatografía y los análisis antioxidantes *in vitro*.

*Análisis fitoquímico:* se llevó a cabo la determinación de quinonas libres, alcaloides, terpenoides, saponinas, taninos y flavonoides de las hojas y sus extractos, de acuerdo con el método descrito por *Douhou* y otros.<sup>9</sup>

*Ensayo de DPPH:* la capacidad antioxidante de cada fracción en diferentes concentraciones se determinó de acuerdo con la metodología descrita por *Puertas-Mejía* y otros<sup>10</sup> con algunas modificaciones y se determinó la concentración efectiva (EC<sub>50</sub>) a la cual 50 % de DPPH fue removido.

En resumen, una alícuota (0,1 mL) de cada muestra (con la dilución necesaria) se adicionó a 1,0 mL de una solución etanólica de DPPH (73,5 µM). De inmediato se midió la absorbancia a 514 nm y luego cada 15 s los primeros 2 min; a continuación, cada 30 s hasta los 5 min y, finalmente, 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 (2,5 a 100 µM) medidas a 514 nm. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Con el fin de evaluar la sensibilidad del método, se usaron sustancias de referencia (ácido ascórbico y BHA [*tert*-butil hidroxianisol]) en diferentes concentraciones (entre 1 y 15 mg/L), en dependencia de la actividad de estas sustancias.

*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 EC<sub>50</sub> se calcularon a partir de curvas de calibración.

## RESULTADOS

La determinación fitoquímica de la planta bajo estudio (tabla 1) indicó principalmente la presencia de compuestos fenólicos y triterpenoides, con una significativa cantidad de taninos tanto en hojas como en el extracto etanólico.

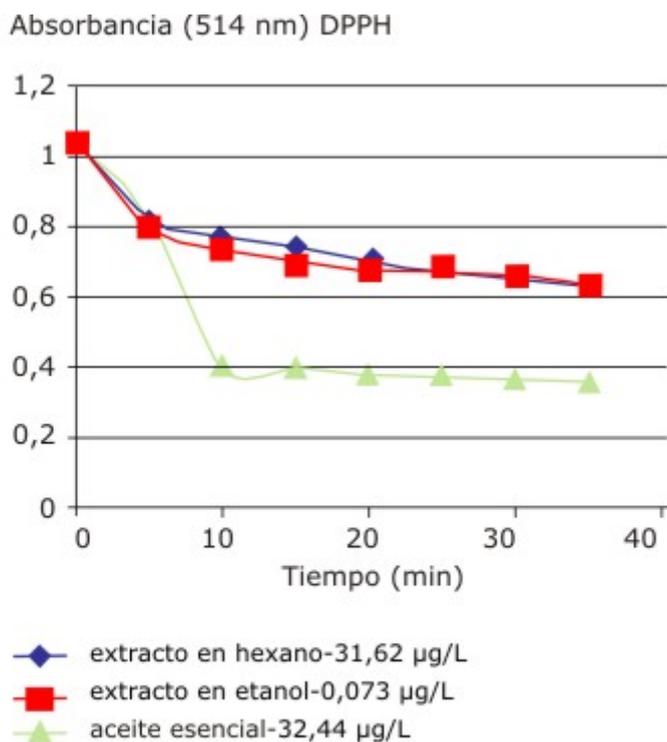
**Tabla 1.** Análisis fitoquímico de las hojas y de los extractos de hojas de *Symphytum officinale*

Familia de compuestos	Presencia			
	Hojas	Extracto en hexano	Extracto en etanol	Aceite esencial
Flavonoides	-	-	-	-
Taninos	+	-	+	-
Saponinas	+	-	D	-
Alcaloides	-	-	-	-
Quinonas	-	-	-	-
Triterpenoides	+	+	+	+

+: presente, -: no está presente, D: nivel mínimo de detección.

Una de las formas para determinar la posible capacidad antioxidante de un extracto es mediante la determinación del estado estacionario de la reacción química entre el DPPH y los componentes presentes en el extracto; los de *S. officinale* presentaron diferente cinética de reacción. En la figura se puede observar una cinética de reacción rápida entre los extractos en hexano y etanol con el radical DPPH durante los primeros 5 min, que se torna lenta durante el tiempo restante; mientras que la reacción del radical DPPH con el aceite esencial se prolongó hasta los 10 min, y luego se estabilizó.

En la tabla 2 se presenta la caracterización antioxidante de los extractos y en la tabla 3 se reportan los datos de EC<sub>50</sub> (entre 0,06 y 0,44 g muestra/ $\mu$ mol DPPH) para cada extracto evaluado.



**Fig.** Estados estacionarios determinados para los extractos de *Symphytum officinale* L.

**Tabla 2.** Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos de *Symphytum officinale*

Muestra	% inhibición	Concentración, mg/L
Aceite esencial	42,23	$3,24 \times 10^{-2}$
Extracto hexano	41,34	$3,16 \times 10^{-2}$
Extracto etanol	49,94	$7,35 \times 10^{-7}$
Ácido ascórbico	86,83	$4,70 \times 10^1$
BHA (butil hidroxianisol)	95,05	$4,39 \times 10^1$

## DISCUSIÓN

La presencia de taninos y de ácidos fenólicos (donde se destaca el ácido rosmarínico) previamente determinados en la planta, los cuales se destacan por sus propiedades antioxidantes, permite inferir el uso de los extractos de *S. officinale* como fuente potencial de compuestos antioxidantes y adicionalmente permite explicar de manera parcial su utilidad como medicamento cicatrizante y regenerador de tejidos. Además, estudios previos sobre la planta han revelado una importante capacidad antioxidante y buena estabilidad de esta a través del tiempo, no obstante, el estudio está limitado porque la evaluación se realizó mediante combinación de extractos de *S. officinale* con extractos de *G. glabra*.<sup>11</sup> Los

resultados de este trabajo, en especial con el extracto etanólico, ratifican las propiedades terapéuticas de la planta, particularmente en la medicina tradicional, porque existen reportes de su aplicación directa sobre la piel afectada y se ha observado una rápida mejoría. Por último, los extractos evaluados demostraron tener un efecto antioxidante significativo potente comparado con otros extractos de amplio uso en la industria y en la medicina tradicional.<sup>12</sup>

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrolló en el Grupo de Investigación en Compuestos Funcionales de la Universidad de Antioquia. Todos los experimentos se realizaron bajo las normas y leyes colombianas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects Med.* 2006;27:1-93.
2. Di Stasi LC, Oliveira GP, Carvalhaes MA. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. *Fitoterapia.* 2002;73:69-91.
3. Barriga HG. *Flora Medicinal de Colombia: Botánica médica.* Bogota: Tercer Mundo Editores; 1992.
4. Andres P, Brenneisen R, Clerc JT. Relating antiphlogistic efficacy of dermatics containing extracts of *Symphytum-officinale* to chemical profiles. *Planta Medica.* 1989;55:66-7.
5. Mohammad FV, Noorwala M, Ahmad VU. A bidesmosidic hederagenin hexasaccharide from the roots of *Symphytum officinale*. *Phytochemistry.* 1995;40:213-8.
6. Noorwala M, Mohammad FV, Ahmad VU. A bidesmosidic triterpene glycoside from the roots of *Symphytum officinale*. *Phytochemistry.* 1994;36:439-43.
7. Furuya T, Hikichi M. Alkaloids and triterpenoids of *Symphytum officinale*. *Phytochemistry.* 1971;10:2217-20.
8. Liu F, Wan SY, Jiang Z. Determination of pyrrolizidine alkaloids in comfrey by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Talanta.* 2009;80:916-23.
9. Douhou N, Yamni K, Tahrouch S. Screening phytochimique d'une endémique Ibéro-Marocaine, *Thymelaea Lythroides*. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux.* 2003;142:61-78.
10. Puertas-Mejía MA, Gómez-Chabala L, Rojano B. Capacidad antioxidante in vitro de fracciones de hojas de *Piper peltatum* L. *Rev Cubana Plant Med.* 2009;14:1-11.

11. Di Mambro VM, Fonseca MJV. Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extracts. J Pharmaceutical Biomedical Analysis. 2005; 37: 287-95.

12. Puertas-Mejía MA, Hillebrand S, Stashenko E. *In vitro* radical scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. Flavour Fragrance J. 2002; 17: 380-4.

Recibido: 10 de junio de 2011.

Aprobado: 16 de octubre de 2011.

*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) 219 8612. Correo electrónico: [mpuertas@exactas.udea.edu.co](mailto:mpuertas@exactas.udea.edu.co)