
Evaluación de la actividad antioxidante de *Quinchamalium procumbens* (santalacea) sobre neuroblastos e identificación de metabolitos secundarios

Jesús Rojas Jaimes, Miguel Vallejos Tenorio y Gisela Vera Quispe¹

RESUMEN

La peroxidación lipídica es un mecanismo deletéreo para las células, causada por los radicales libres presentes en el envejecimiento celular. Existen plantas con metabolitos secundarios con capacidad antioxidante. *Quinchamalium procumbens* es una hierba perenne de 15 a 25 centímetros de inflorescencia, de color amarillo, con 12 especies sudamericanas y nativa del Perú, distribuida en la cordillera de los Andes entre los 3500 a 4000 msnm. Estudios previos mostraron la presencia de moléculas antioxidantes como los flavonoides. El objetivo del presente trabajo es evaluar la capacidad antioxidante de los metabolitos de *Quinchamalium procumbens* e identificar los posibles agentes antioxidantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se midió el efecto del potencial reductor del extracto etanólico de *Quinchamalium procumbens* por la reacción colorimétrica entre el malondialdeído y el ácido tiobarbitúrico 535 nm. Los metabolitos secundarios fueron identificados por cromatografía en capa fina, usando reactivos para revelaciones generales, terpenoides, esteroides y fenolitos.

RESULTADOS

Se obtuvo un 50% de inhibición de radicales libres. Los principales agentes reductores identificados por cromatografía fueron los flavonoides.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

El 50% de inhibición de radicales libres en neuroblastos, frente a un antioxidante de referencia como el alfa tocoferol,

con un valor de 54.2% de inhibición, posiblemente debido a los flavonoides, muestra un gran poder reductor del extracto etanólico total de la planta estudiada, siendo este un estudio previo a los futuros donde se evalúe la mayor concentración de metabolitos reductores por partes de la planta.

PALABRAS CLAVE

Antioxidante, neuroblasto, flavonoides, *Quinchamalium*. (Fuente: DeCS Bireme).

SUMMARY

Lipidical oxidation is a deleterious mechanism against cells caused by free radicals in cell's age. *Quinchamalium procumbens* is a plant with 15 to 25 cm of size, yellow flowers, 12 species in South America and it is original from Peru. Previous studies showed the presence of reductors molecules. The objective of the study is to evaluate the antioxidant capacity and identify the possible antioxidant metabolites

MATERIAL AND METHODS

The potential reductor effect of *Quinchamalium procumbens* was measured using a colorimetric method to identify the reaction between malondialdeido and tiobarbituric acid. The secondary metabolites were identified by chromatography.

RESULTS

The inhibition of free radicals was 50%. The principal reductor agent identified were flavonoides.

¹ Laboratorio de Biotecnología. Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Universidad Nacional Federico Villareal.

DISCUSSION AND CONCLUSION

The 50% of inhibition obtained and compared with a referencial antioxidante alfa tócoferol with a value of 54.2% showed a important reductor power in ethanolic extract in the studied plant.

KEY WORDS

Antioxidant, neuroblast, flavonoides, *Quinchamalium*.
(Source: DeCS Bireme).

INTRODUCCIÓN

La peroxidación lipídica se fundamenta en el deterioro básico de los mecanismos celulares del proceso de envejecimiento, desordenes patológicos, algunos estadios de la arteriosclerosis y daño hepático causado por diversos agentes (etanol, fósforo, solventes orgánicos). Se ha identificado que la peroxidación lipídica es causada por los radicales libres que se encuentran en las células; estos generan daño a las membranas celulares, conduciendo a estructuras membranosas anormales y a la muerte celular.

La peroxidación lipídica involucra la reacción directa de radicales libres como el anión superóxido, grupo hidroxilo, peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos inestables por su alta capacidad de hacer que las moléculas de la célula pierdan electrones, oxidándolos y desestabilizando el estado normal de las células.

En el ensayo de antioxidantes se elige como un patrón el estudio del efecto de radicales libres sobre las membranas celulares de la mitocondria y se examina el efecto de la planta *Quinchamalium procumbens* Ruiz en extracto etanólico. Estudios previos han demostrado que esta planta contiene una gran cantidad de flavonoides, cuya peculiaridad es actuar como agentes reductores que neutralizan el efecto nocivo de los radicales libres.

El malondialdeído es un compuesto generado por la lipoperoxidación, forma un complejo colorimétrico con el ácido tiobarbitúrico en medio ácido, siendo la base de la medición en el presente trabajo⁶.

MATERIALES Y MÉTODOS

Actividad antioxidante *in vitro* sobre células nerviosas

- Se tomó un hemisferio cerebral de ratón y se homogenizó con el tampón Tris-HCl 30mM. La

dilución fue de 0,2 g de muestra / 9 ml de tampón.

- Se tomó 40 ul del extracto vegetal, previamente procesado a través de un pulverizado de la planta completa, se le agregó etanol al 96%, se dejó a temperatura ambiente y se diluyó en 1 ml de homogenizado de ratón dilución 35X.
- Se incubó por 20 minutos a 37° C.
- Se tomó 200 ul de la muestra y se agregó 0,8 ml de ácido tiobarbitúrico.
- Se incubó a 100° C por 15 minutos.
- Se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 535 nm.
- Se procedió al calculo de del porcentaje de inhibición del agente reductor a través de la siguiente fórmula:

Porcentaje de inhibición = 100 - porcentaje de reacción.

Porcentaje de reacción = $\frac{DOc \times 100}{DOd}$

$DOd = DO_{20} - DO_{to}$

$DOc = DO_m - DO_{to}$

DO_{20} = Absorbancia de la solución de reacción sin extracto vegetal.

DO_{to} = Absorbancia de la solución sin extracto vegetal y sin extracto cerebral.

DO_m = Absorbancia de la reacción (extracto cerebral + extracto vegetal)

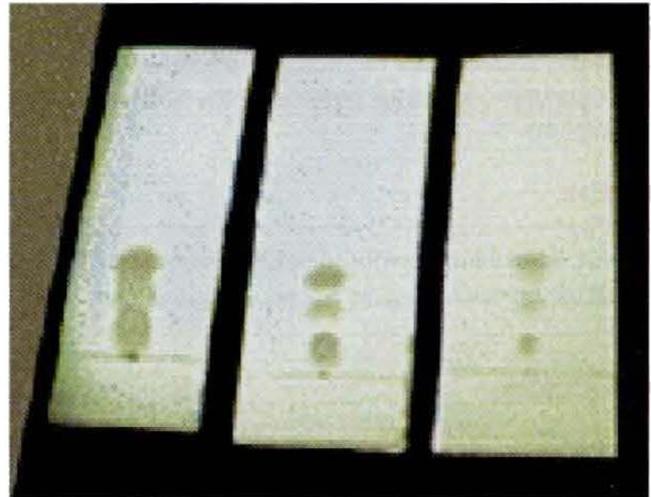
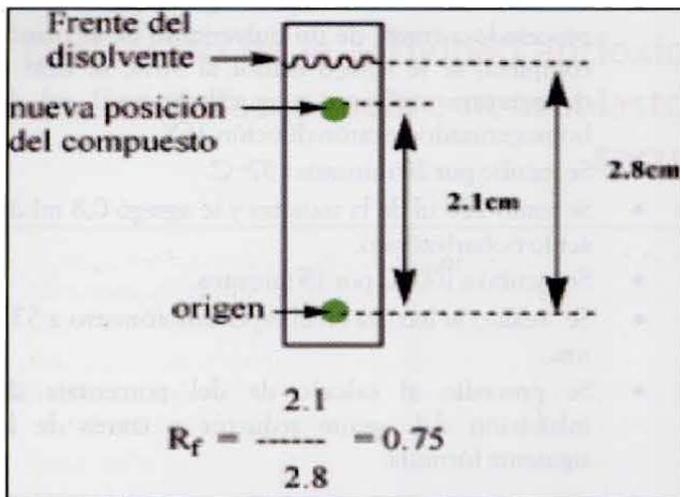
Preparación de la cámara y corrida cromatográfica

- Cámara cromatográfica de vidrio.
- Se saturó el medio con un volumen de ciclohexano, acetato de etilo y ácido acético en la proporción 16:9:0,2 (fase móvil).
- En las bandas de silica gel se sembró la muestra y se dejó migrar hasta un límite de 0.5 cm con el extremo final de la banda.

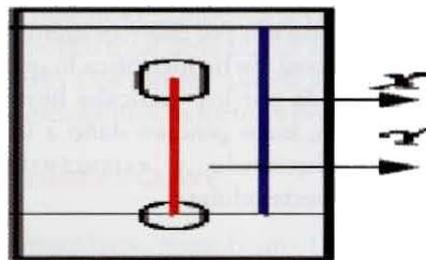
Revelado de las bandas de silica

- Las muestras que migraron en las bandas se sometieron a la luz UV para la observación de compuestos coloreados.
- Revelado con los reactivos para determinar la presencia de otros compuestos no coloreados.
- Se usaron los reactivos: generales (1.1; 1.4 y 1.5) para terpenoides y esteroides (2.3 y 2.16) para compuestos fenólicos (3.7; 3.9; 3.10; 3.12 y 3.13); reactivos para revelar alcaloides (4.1; 4.4; 4.7; 4.12; 4.17 y 4.19)⁵.

Medida de Rf



$$R_f = \frac{Y}{X}$$



RESULTADOS

Porcentaje de inhibición

Dio como resultado 50%.

Manchas sin revelar

A la observación bajo UV, todas las bandas mostraron manchas verde fosforescente, con Rf en promedio de 0.67.

Revelados

Reactivos generales

Reactivo	Simple vista	Luz UV	Rf	Metabolito presuntivo
1.1 Ac sulfúrico	_____	Manchas fosforescentes	0.95	Presencia metabolitos
1.4 Permanganato de potasio alcalino	Manchas marrones	_____	0.33 y 0.66	Sustancias reductoras

Reactivos para revelar terpenoides y esteroides

Reactivo	Simple vista	Luz UV	Rf	Metabolito presuntivo
2.3 Ac fosfomolibdio	Manchas verde oscuro	_____	0.22 y 0.34	Aceites esenciales 5
2.16 Vainillina Ac fosfórico	Manchas marrones	Manchas verde fosforescente	0.56	Esteroides y terpenoides

Reactivos para revelar compuestos fenólicos

Reactivo	Simple vista	Luz UV	Rf	Metabolito presuntivo
3.7 Cloruro de Fe(III)	Manchas verdosas	_____	0.70 y 0.86	Fenoles
3.9 Hidróxido de potasio	_____	Manchas amarillentas	0.82 y 0.88	Antronas
3.10 Hexacianoferrato (III) de potasio-cloruro de Fe(III)	Manchas amarillentas y azules	_____	0.89 y 0.98	Furanocumarinas y compuestos fenólicos
3.12 Sulfato de cobre-citrato sódico	_____	Fluorescentes	0.23	Flavonoides y cumarinas con grupo OH orto
3.13 Vainillina - Ac clorhídrico	Manchas púrpuras a marrón claro	_____	0.34	Catequinas proantocianidinas

Reactivos para revelar alcaloides

Reactivo	Simple vista	Luz UV	Rf	Metabolito presuntivo
4.1 Ac nítrico	_____	Manchas rojizas	0.96	Alcaloides. Probablemente ajmalicina y brucina
4.7 Reactivo de Marquis	_____	_____	0.79 y 0.52	Alcaloides. Probablemente morfina, codeína o tebaina
4.17 Reactivo de Wagner	Manchas marrones	_____	0.0	Alcaloides

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

Se tiene que mencionar que la muestra vegetal tratada fue de naturaleza seca, por lo que pensamos que una muestra fresca tendría metabolitos de mejor calidad y en mayor cantidad. A pesar de las dificultades de ensayo, la muestra vegetal ha mostrado un buen poder reductor, posiblemente debido a la presencia de flavonoides¹; así, en corridas cromatográficas realizadas en capa fina, previamente a este ensayo, se identificaron flavonoides con posición orto del grupo OH, esteroides, terpenoides, catequinas, aceites esenciales y sustancias reductoras, con los reveladores respectivos³. De estos, los de más importante interés biológico son los flavonoides, por su capacidad antioxidante, así como los terpenoides y aceites esenciales por su capacidad antimicrobiana⁴.

Se concluye que esta especie tiene un gran potencial metabólico que amerita evaluación, sabiendo por la publicación indexada sobre la actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* de *Quinchamalium majus*. En consecuencia, es idóneo el estudio de esta especie autóctona de la sierra peruana: *Quinchamalium procubens* con efectos microbicidas.

Adicionalmente existió un importante efecto de inhibición de los oxidantes comparado a un antioxidante de referencia como el alfa tocoferol, con un valor de 54.2% de inhibición². Se concluye que el extracto etanólico total de *Quinchamalium procubens* tiene un efecto antioxidante importante (50%) y se espera obtener mejores resultados, en cantidad y calidad, con extracciones de plantas frescas y por partes separadas de la plantas.

Se avizora así a esta planta como una alternativa en el uso antimicrobiano -en caso de confirmarse en estudios

clínicos- y por su efecto reductor, actuando como un oxidante contra los radicales libres que diariamente nos hacen daño; además, por ser endémica de nuestro país y muy accesible en general, podría contribuir a elevar la calidad de vida de nuestra población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Del Castillo Helda. Identificación de flavonoides en *Quinchamalium procubens* (comunicación personal, 2005).
2. Pérez de Alejo José, Sánchez Nora, Bu Margarita. Actividad antioxidante *in vivo* e *in vitro* de un extracto natural de origen vegetal. Revista Cubana de Plantas Medicinales (1998), pp. 19-22.
3. Rojas Jesús, Vallejos Miguel, Vera Gisela. Identificación de metabolitos secundarios de *Quinchamalium procubens* en cromatografía de capa fina. Curso de Biotecnología de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional Federico Villarreal (2005).
4. Gua JQ, Wang Y, Franzblau SG, Montenegro G, Timmermann BN. Constituents of *Quinchamalium majus* with potential antitubercular activity. Z Naturforsch (2004), pp. 797-802.
5. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica, segunda edición. Lima, Pontificia Universidad Católica, 1999.
6. Marcelo A. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de plantas por colorimetría. Guía de Práctica de Biotecnología. Facultad de Ciencias Naturales. Lima Universidad Nacional Federico Villarreal, 2005.

Agradecimiento: Deseo agradecer con especial estima a la Q.F. Helda del Castillo, profesora a cargo del curso de Química Biológica en la Facultad de Medicina Humana de la USMP, por la información proporcionada y la colaboración en el presente trabajo.