

Estudio de la Actividad Antioxidante de *Solanum americanum* Mill. *hierba mora*"

Shabely Garabito, Silvia Klinar y Artemio Chang

INTRODUCCION

El presente trabajo está enmarcado en el proyecto Fitofarmacopea de Ica del Laboratorio de Productos Naturales de la UNICA ^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10, 11,12,13,14}. Los Antioxidantes tienen importancia en el metabolismo humano ya que en este, se originan especies reactivas oxidantes tales como: $\text{OH}^\cdot$, H_2O_2 , etc., el problema crucial consiste en que los radicales libres no tienen receptores específicos, atacan todo lo que encuentran y son verdaderos misiles biológicos. Son responsables de desordenes vasculares que pueden originar diversos estados patológicos que incluyen enfermedades crónicas, cáncer, enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, envejecimiento acelerado y enfermedades reumáticas. En la actualidad se ha incrementado la investigación en la búsqueda de antioxidantes naturales, principalmente de origen vegetal. ^{15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35}

Con la finalidad de encontrar antioxidantes de origen natural, en el presente trabajo de tesis se ha evaluado la actividad antioxidante de una especie de la flora medicinal Iqueña *Solanum americanum* Mill. "hierba mora" (extractos de hojas, frutos y raíces), mediante un ensayo "in vitro" basado en la capacidad de inhibir a las enzimas Polifenoloxidasas (PPO) obtenidas de manzanas. Los ensayos se realizaron con cuatro concentraciones diferentes de cada uno de los extractos, los resultados se comparan con un patrón estándar de referencia (Vitamina C) para expresar la actividad antioxidante. El extracto etanólico de hojas presentó una actividad antioxidante de 1.39 veces mayor que la vitamina C.



Solanum americanum Mill. (hierba mora), (Sinonimia: *Solanum nigrum* L.), es indígena del Perú. Crece en zonas templadas de todo el mundo, terrenos umbríos y húmedos, arceros, campos sin cultivar.

En la medicina tradicional se utiliza el cocimiento de las hojas, en el tratamiento de la erisipela, el cocimiento o la cataplasma se usa como un poderoso analgésico para combatir neuralgias, reumatismos, etc.; la maceración de las hojas en agua se utiliza como enemas en las fiebres tifoideas y tifus exantemático. El jugo de los frutos se aplica como sedante a los hemorroides externos; el cocimiento en la tos convulsiva; la tintura de los frutos, en frotaciones, en los desvanecimientos de cabeza. La cataplasma de las hojas contra la erisipela. ^{37,38,39, 40,41,42}

EXPERIMENTAL

Extracción.- 500 gr. de material vegetal seco y molido (hojas, frutos y raíces), se extraen por gradiente, utilizando tres solventes de diferente polaridad: Diclorometano, Etanol y Agua destilada. Con los dos primeros solventes se realiza la extracción por maceración de 7 días, y el extracto acuoso por reflujo. Los extractos obtenidos se secan y a partir de los extractos secos se prepararon diluciones a 25, 50, 75 y 100 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente.

Evaluación de la actividad antioxidante

Descripción de la Técnica.- La actividad antioxidante se evaluó mediante una técnica "In Vitro", que consiste en determinar la capacidad de los extractos para inhibir a las enzimas polifenoloxidasas (PPO). Se utiliza catecol como sustrato, el cual se somete a la acción de las PPO, la o-benzoquinona formada se mide en espectrofotómetro a 420 nm; esta lectura se considera el blanco. Se repite el ensayo agregando el extracto en evaluación, a diferentes concentraciones (25, 50, 75 y 100 ug/ml). Se considera que el ensayo de actividad antioxidante es positivo cuando disminuye la cantidad de o-benzoquinona formada, en comparación con el blanco.

Si se observa actividad antioxidante, el ensayo se repite utilizando vitamina C (estándar de referencia), en lugar de la muestra y se compara la actividad antioxidante .

Procedimiento

Preparar las siguientes soluciones:

- a) Blanco : 1.7 ml de amortiguador + 0.3 ml de catecol
- b) Muestra : 1.4 ml de amortiguador + 0.3 ml de catecol + 0.3 ml de solución del extracto
- c) Estándar : 1.4 ml de amortiguador + 0.3 ml de catecol + 0.3 ml de solución de vitamina C

A cada solución anterior, se le agrega 1ml de la solución de PPO, e inmediatamente se procede a leer la absorbancia a 420 nm en el Espectrofotómetro.

RESULTADOS

Resultados de la evaluación de la actividad antioxidante en extractos de hojas, frutos y raíces de *Solanum americanum* "hierba mora"

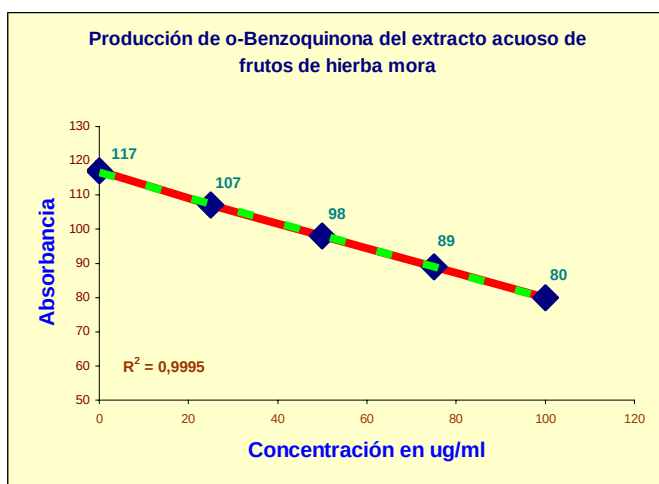
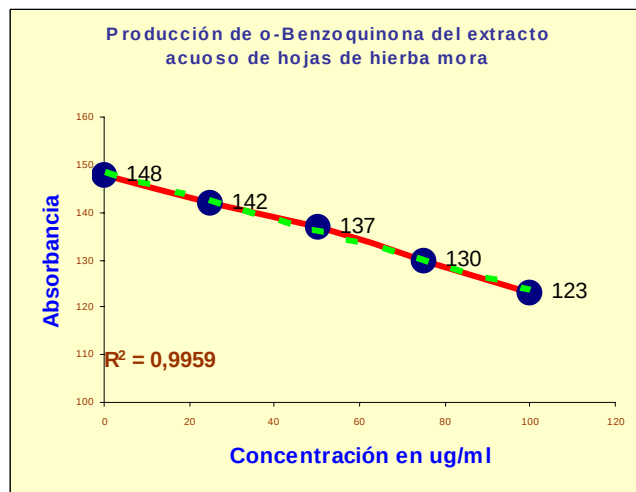
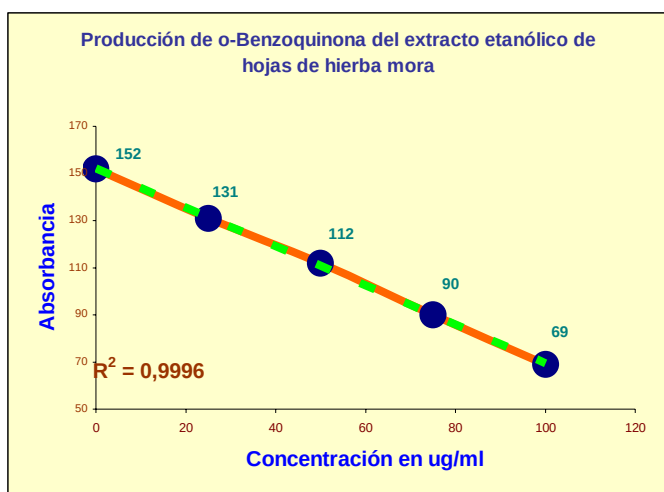
CUADRO N° 1.- RESULTADOS DE LA EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE LAS HOJAS, FRUTOS Y RAICES DE <i>Solanum americanum</i> "hierba mora"			
N°	PARTE DE LA PLANTA	Extracto	Actividad antioxidante
1	HOJAS	Eter de petróleo	Negativo
2		Diclorometánico	Negativo
3		Etanólico	Positivo
4		Acuoso	Positivo
5	FRUTOS	Eter de petróleo	Negativo
6		Diclorometánico	Negativo
7		Etanólico	Negativo
8		Acuoso	Positivo
9	RAICES	Eter de petróleo	Negativo
10		Diclorometánico	Negativo
11		Etanólico	Negativo
12		Acuoso	Negativo

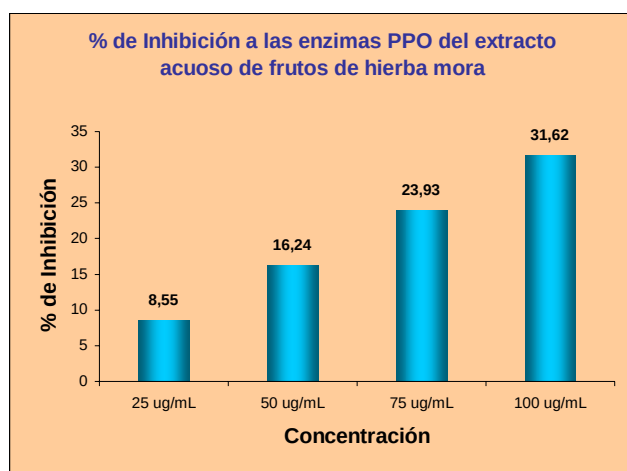
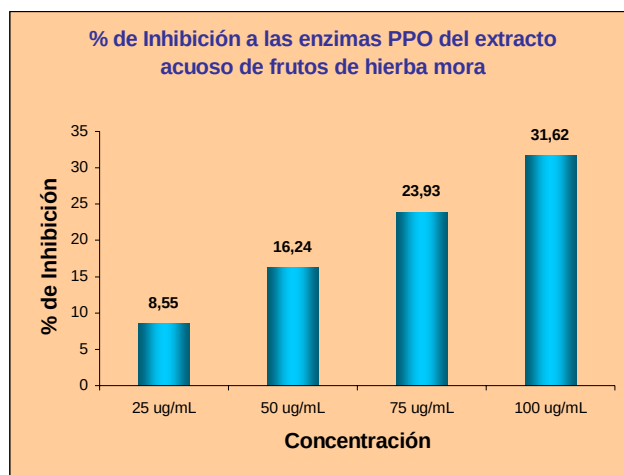
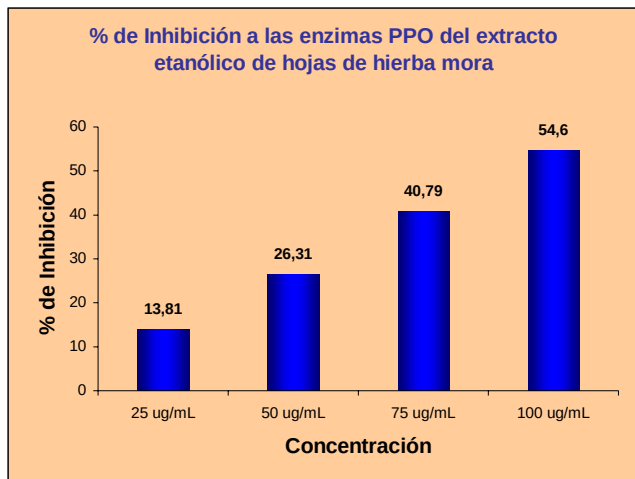
Los resultados son promedios de 5 ensayos, en cada caso.

Producción de o-Benzoquinona en presencia de los extractos que presentan actividad antioxidante.

Nº	Extracto	PARTE DE LA PLANTA	PRODUCCIÓN DE QUINONA (absorbancia x 1000 a 420 nm)				
			0 blanco	25 ug/ml	50 ug/ml	75 ug/ml	100 ug/ml
1	Etanólico	Hojas	152	131	112	90	69
2	Acuoso	Hojas	148	142	137	130	123
3	Acuoso	Fruto	117	107	98	89	80
St	Vitamina C	-----	131	119	106	94	83

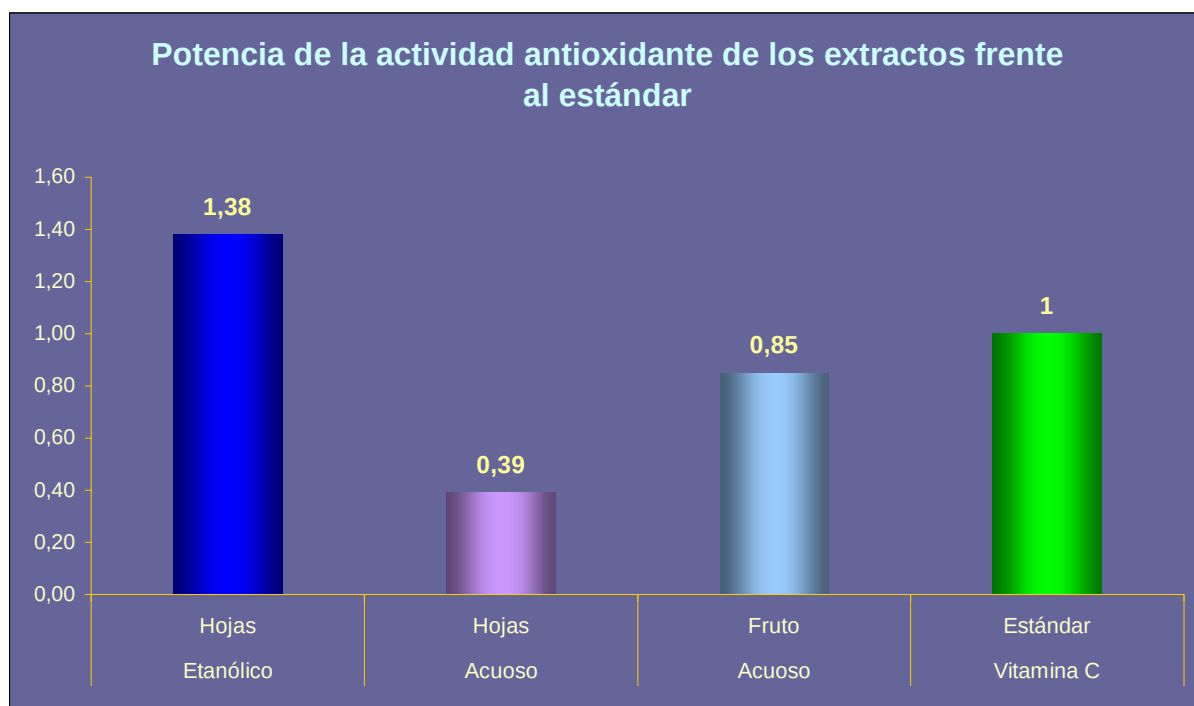
* Los resultados son promedios de 5 ensayos, en cada caso.



Porcentaje de inhibición de la actividad de las enzimas PPO**INTERPRETACION DE RESULTADOS**

La Potencia de la actividad antioxidante de los extractos se determina por comparación del % de inhibición a la polifenoloxidasasa a la misma concentración; en este caso se seleccionó la concentración a 50 ug/ml.

Extracto	% de Inhibición a PPO 50 ug/ml	Potencia
Etanólico de hojas	26.31	1.38
Acuoso de hojas	7.43	0.39
Acuoso de frutos	16.24	0.85
Vitamina C	19.08	1



CONCLUSIONES

- Los extractos etanólico y acuoso de hojas y el extracto acuoso de frutos de *Solanum americanum* “hierba mora”, presentan actividad antioxidante.
- El extracto etanólico de hojas presenta una actividad antioxidante de 1.38 veces mayor que la vitamina C.
- Los extractos acuosos de hojas y frutos presentan actividad antioxidante de 0.39 y 0.85 veces menor que la vitamina C.

REFERENCIAS

1. MURGA G. (1995). Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNICA.
2. SOTOMAYOR S. (1996). Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNICA.
3. OLAECHEA A., VARGAS Y. (1997). Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNICA.
4. ALARCON J., ESCATE S. Y POMA E. (1997). Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNICA.
5. LARA P. (1998). Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNICA.
6. CONDEÑA A. Y LUDEÑA S. (1998) Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNICA.
7. ACUACHE M, MIRANDA C. Y CHI J. (1999) Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNICA.
8. CUETO C. (1999) Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNICA.
9. FLORES E., APAZA E., MALDONADO Y., CEBRIÁN I. Y GUEVARA F. (2000) .Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNICA.
10. CORTEZ R., FERNANDEZ F. Y SUKARI J. (2000) .Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNICA.
11. CHANG A., KLINAR S. Y LEON O.S. (1997) Actividad antioxidante en extractos de *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C. “uña de gato”. VIII Congreso Peruano de Farmacia. I Congreso UNICA.

12. CHANG A., KLINAR S., CHANLLIO J. (2000) Evaluación de la actividad antioxidante de cinco plantas medicinales de Ica. Congreso Internacional Fito 2000.
13. CHANG A., KLINAR S., JAIMES S. (2000) Evaluación de la actividad antioxidante de cinco *Polimnia sonchifolia* "yacón". Congreso Internacional Fito 2000.
14. KLINAR S., CHANG A., CHANLLIO J. (2002) Evaluación de la actividad antioxidante en extractos de *Urtica magellanica* Poir "ortiga". IV Congreso Mundial de Medicina Tradicional.
15. MONGELLI E. et. Al. (1997) In vitro antioxidant and cytotoxic activity of extracts of *Baccharis coridifolia* DC. J Ethnopharmacol
16. KIRBY A.J, SCHMIDT R.J. (1997) The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs--I. J Ethnopharmacol
17. DE LAS HERAS B ET. AL.(1998) Antiinflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador. J Ethnopharmacol
18. LIN CC, YEN MH, LO TS, LIN JM. (1998) Evaluation of the hepatoprotective and antioxidant activity of *Boehmeria nivea* var. *nivea* and *B. nivea* var. *tenacissima* J Ethnopharmacol
19. DESMACHELIER C, ROMAO RL, COUSSIO J, CICCIA G. (1999) Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the 'Caatinga' region in northeastern Brazil. J Ethnopharmacol
20. PRINCE PS, MENON VP. (1999) Antioxidant activity of *Tinospora cordifolia* roots in experimental diabetes. J Ethnopharmacol
21. HABSAH M. et. Al. (2000) Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities. J Ethnopharmacol
22. MANTLE D, EDDEB F, PICKERING AT. (2000) Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. J Ethnopharmacol
23. HE Z, LAU K, XU H, LI P, PUI-HAY BUT P. (2000) Antioxidant activity of phenylethanoid glycosides from *Brandisia hancei*. J Ethnopharmacol
24. SCARTEZZINI P, SPERONI E. (2000) Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. J Ethnopharmacol
25. BANDYOPADHYAY SK, PAKRASHI SC, PAKRASHI A. (2000) The role of antioxidant activity of *Phyllanthus emblica* fruits on prevention from indomethacin induced gastric ulcer. J Ethnopharmacol
26. FEJES S, et. Al.(2000) In vitro antioxidant activity of *Anthriscus cerefolium* L. (Hoffm.) extracts. J Ethnopharmacol
27. BHATTACHARYA A et al(2001) Anti-oxidant effect of *Withania somnifera* glycowithanolides in chronic footshock stress-induced. J Ethnopharmacol
28. ALIMENTOS PROCESADOS. (1997) Antioxidantes – La más saludable alternativa. México.
29. LOCK DE UGAZ OLGA, CHAVEZ RICARDO, PLAZA ALBERTO. (1996) "Antioxidantes de Origen Vegetal". Revista Química 71 – 101.
30. VALENZUELA ALFONZO y VIDELA LUIS. (1989) Formas Activas del Oxígeno, Stress Oxidativo y su Proyección Patológica. Revista Médica de Chile.
31. ALDECOA FRANKLIN (1995). Revista Diagnóstico Vol. 34, 29-33.
32. AYRES M. STEPHEN (1996) Tratado de Medicina Crítica y Terapia intensiva. Edit. Medica Panamericana (3ra Edición Argentina).
33. MURRAY ROBERT ET AL (1998) Bioquímica de Harper 1ra Edición.
34. MENDEZ F. JOSE, RAMOS RODRIGUEZ HECTOR (1997). "Sobre los Beneficios de los Radicales Libres", Rev. Med, IMSS. Volumen 35 – México.
35. PEÑA SIGUAS CARMEN E. (1998). Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNICA.
36. PAGE, CURTIS, SUTTER, WALKER, HOFFMAN (1998). Farmacología Integrada. Edición Española. Madrid.
37. CALDERON P. Y FLORES R. (1987)). Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNICA.
38. AKHTAR MS, MUNIR M. (1989) Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Solanum nigrum*, *Brassica oleracea* and *Ocimum basilicum* in rats. J Ethnopharmacol.
39. CACERES A, LOPEZ BR, GIRON MA, LOGEMANN H. (1991) Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. J Ethnopharmacol
40. SULTANA S, PERWAIZ S, IQBAL M, ATHAR M. (1995) Crude extracts of hepatoprotective plants, *Solanum nigrum* and *Cichorium intybus* inhibit free radical-mediated DNA damage. J Ethnopharmacol
41. PEREZ RM, PEREZ JA, GARCIA LM, SOSSA H. (1998) Neuropharmacological activity of *Solanum nigrum* fruit. J Ethnopharmacol
42. PRASHANTH KUMAR V, SHASHIDHARA S, KUMAR MM, SRIDHARA BY. (2001) Cytoprotective role of *Solanum nigrum* against gentamicin-induced kidney cell (Vero cells) damage in vitro. Fitoterapia.