

Evaluación de la actividad antioxidante en extractos hidroalcohólicos de *Portulaca oleracea* L.

Mabel Rosalía Gruszycki *, Gabriela Malena Valenzuela, Margarita Báez, Pedro Daniel Leguiza, Ana Elena Gruszycki, Daniel Andrés Alba

Universidad Nacional del Chaco Austral, Comandante Fernández 755, Presidencia Roque Sáenz Peña, Chaco, Argentina.

*Correo electrónico: farmacol@uncaus.edu.ar

Recibido para evaluación: 29 de abril de 2019

Aceptado para publicación: 2 de julio de 2019

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antioxidante en extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Portulaca oleracea* L. Se obtuvieron extractos utilizando como solventes metanol (MeOH) y etanol (EtOH). Los fenoles totales y los flavonoides se cuantificaron con el método de Folin-Ciocalteu y el de complejación de aluminio. Para determinar la actividad antioxidante de los extractos se utilizó la técnica de decoloración del radical libre DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y mediante la metodología ABTS*⁺ (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico). El extracto metanólico presentó mayor capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH* y ABTS*⁺, así como un mayor contenido de fenoles totales y flavonoides, en comparación con el extracto etanólico. Estos resultados demuestran que las partes aéreas de *P. oleracea* presentan actividad antioxidante.

Palabras clave: *Portulaca oleracea*, verdolaga, polifenoles, antioxidantes.

SUMMARY

Evaluation of the antioxidant activity in hydroalcoholic extracts of *Portulaca oleracea* L.

The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity in hydroalcoholic extracts of the aerial parts of *Portulaca oleracea* L. Extracts were obtained using methanol and ethanol as solvents. Total phenols and flavonoids were quantified using the Folin-Ciocalteu method and the aluminum complexation reaction. The antioxidant activity of the extracts was screened using the DPPH* (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)

radical scavenging method and the ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin)-6-sulfonic acid) assay. The methanolic extract showed a greater antioxidant capacity against DPPH[•] and ABTS^{•+}, as well as a higher content of total phenols and flavonoid, in comparison to the ethanolic extract. These results suggest that the aerial parts of *P. oleracea* exhibit antioxidant activity.

Key words: *Portulaca oleracea*, purslane, polyphenols, antioxidants.

INTRODUCCIÓN

Portulaca oleracea L. perteneciente a la familia Portulacaceae, conocida popularmente en Argentina como verdolaga, es una planta herbácea anual, con distribución cosmopolita [1]. Diversos grupos étnicos la han utilizado por muchos siglos como alimento y en medicina contra varios padecimientos. En la medicina tradicional china se la ha utilizado por miles de años y es conocida popularmente como el “vegetal para una larga vida” [1]. La Organización Mundial de la Salud la catalogó como una de las plantas medicinales más usadas, con el vocablo de “panacea global” y ha sido clasificada como una de las ocho plantas más comunes del mundo [2].

Una revisión respecto del perfil fitoquímico y los efectos farmacológicos de *P. oleracea* destacó su importancia en la industria alimentaria, describiendo un amplio espectro de propiedades farmacológicas tales como neuroprotectoras, antimicrobianas, antidiabéticas, antioxidantes, antiinflamatorias, antiulcerogénicas y actividades anticancerígenas, asociadas con diversos constituyentes químicos, incluyendo flavonoides, alcaloides, polisacáridos, ácidos grasos, terpenoides, esteroides, proteínas, vitaminas y minerales. Sin embargo, en la misma se concluyó que se requieren más estudios mecanicistas antes de considerar a *P. oleracea* para su uso clínico [1].

Se ha informado que *P. oleracea* es la fuente vegetal más rica de ácidos grasos omega-3 y contiene altos niveles de vitaminas E, C y betacarotenos. La abundancia de estos nutrientes esenciales indica su potencial para convertirse en una nueva fuente de alimentos tanto para humanos como animales [2]. En estudios realizados con verdolaga por su efecto antioxidante se concluyó que es un producto natural prometedor, que podría ser útil para la prevención de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y otras enfermedades crónicas causadas por el estrés oxidativo [3].

Una revisión farmacológica referida a las actividades antiinflamatorias, antioxidantes, inmunomoduladoras y antitumorales mostró que *P. oleracea* ejerce sus efectos a través

de las propiedades antiinflamatorias, equilibrando el sistema inmunitario adaptativo e innato dependiendo de las situaciones [4].

En Latinoamérica existe literatura que refiere el uso popular, la forma de preparación y su utilidad terapéutica en diversos países de la región. En el *Vademécum de malezas medicinales de la Argentina, indígenas y exóticas* se la describe a *P. oleracea* L. como una planta anual, glabra, carnosa de tallos prostrados muy ramificados desde la base, formando matas de hasta 30 cm de altura, comúnmente rojizos; hojas glaucas, alternas o agrupadas en el ápice de las ramificaciones, enteras, gruesas y carnosas; flores pequeñas, sésiles, amarillas y el fruto es una cápsula globosa pluriseminada. Popularmente, la infusión de esta planta se toma para tratar enfermedades de la vejiga y del hígado, así como para calmar dolores renales [5].

Los tallos y hojas de la verdolaga son comestibles y tienen un sabor similar al de la espinaca. El extracto acuoso de esta planta no mostró citotoxicidad o genotoxicidad. Por esta razón, es considerado un vegetal seguro [6].

De otro lado, se ha informado que el contenido total de fenoles y flavonoides está asociado con la actividad antioxidante en varias plantas [2]. Así, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antioxidante en extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Portulaca oleracea* L.

METODOLOGÍA

Recolección y preparación de las muestras

Se recolectaron las partes aéreas de la planta en la zona rural del departamento O'Higgins, provincia del Chaco, entre los meses de enero a marzo de 2018. La localización por coordenadas para la especie estudiada fue 27°13'7.09"S 60°33'43.36"O. Un ejemplar fue herborizado y depositado bajo el código CTES0060229 en el Herbario del Instituto de Botánica del Nordeste, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina. Las partes aéreas de las plantas fueron lavadas con agua potable, las porciones decoloradas y dañadas por insectos fueron descartadas (ver figura 1 *Portulaca oleracea* L.). Luego se procedió al secado a temperatura ambiente y a la sombra, se sometió a molienda con un molino de cuchillas (TecnoDalvo®) hasta polvo grueso y finalmente se almacenó en recipientes de vidrio al abrigo de la luz hasta su uso.

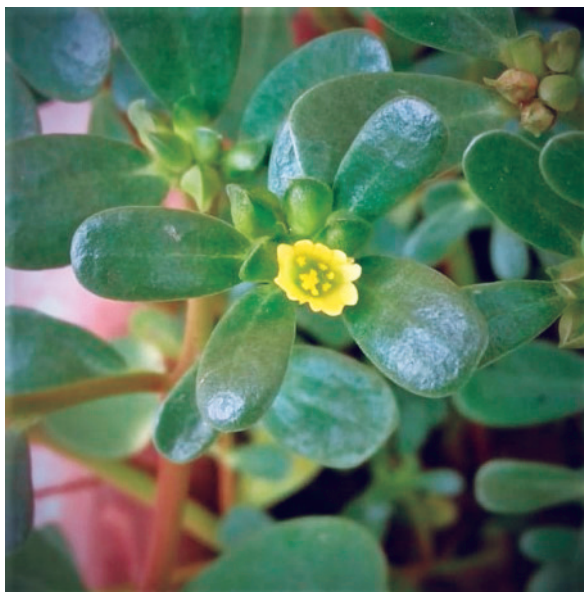


Figura 1. *Portulaca oleracea* L.

Preparación de extractos

Se pesaron 5 gramos de muestras en polvo, se colocaron en matraces cónicos y se añadió 100 ml de EtOH al 70% (v/v) o MeOH al 80% (v/v) respectivamente. La muestra se dejó durante 2 horas en un baño de agua con agitación a 100 rpm a una temperatura de $40 \pm 1^\circ\text{C}$. El filtrado se realizó a través de papel de filtro (Whatman número 1) y el residuo se volvió a extraer nuevamente con el solvente utilizado de acuerdo con el procedimiento mencionado anteriormente. Los filtrados se agruparon y el exceso del solvente utilizado se evaporó a presión reducida utilizando un evaporador rotatorio (Büchi Rotavapor R-114, Suiza). En ambos casos, los extractos concentrados se almacenaron a $-20 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta su utilización. Los extractos se prepararon siguiendo el método descrito por Alam *et al.*, con ligeras modificaciones [2].

Tamizaje fitoquímico

La identificación preliminar de los compuestos fue desarrollada mediante los procedimientos establecidos para cada metabolito [7].

Cuantificación de fenoles totales.

El contenido de fenoles totales se determinó usando la técnica de Singleton *et al.* [8]. Este método se fundamenta en que los compuestos fenólicos reducen el reactivo de

Folin-Ciocalteu para formar un complejo azulado que absorbe a 765 nm. A 90 μ l de extracto de la muestra se agregaron 1,91 ml de agua desionizada y 0,2 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu; después de 2 minutos se agregó 0,8 ml de carbonato de sodio 15,9 %, se incubó a 50° C durante 5 minutos y se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-visible (UV-1800, Shimadzu®). Se realizó la curva de calibración con una solución alcohólica de ácido gálico (AG) (ver figura 2). Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco de la muestra (mg EAG/g ps muestra). Este procedimiento se efectuó con cada uno de los extractos por triplicado.

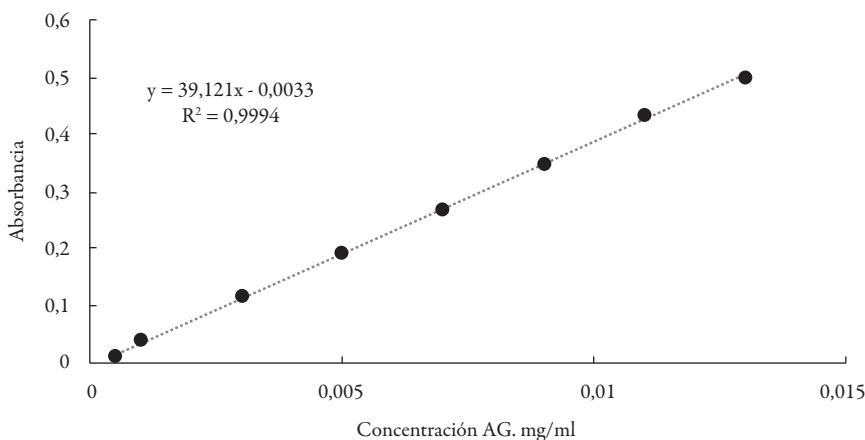


Figura 2. Curva de calibración ácido gálico.

Cuantificación de flavonoides

El contenido de flavonoides en los diferentes extractos fue determinado por el método de Popova *et al.* [9] con modificaciones. A una alícuota de 90 μ l de extracto se le adicionaron 1,91 ml de MeOH; 0,1 ml de solución etanólica de $AlCl_3$ 5 % y finalmente 2,9 ml de MeOH. Se dejó durante 10 minutos a temperatura ambiente y la absorbancia fue medida a 425 nm en un espectrofotómetro UV-visible (UV-1800, Shimadzu®). Se realizó la curva de calibración con una solución alcohólica de quercetina (Q) (ver figura 3). El contenido de flavonoides fue calculado como mg equivalentes de quercetina por gramo de peso seco de la muestra (mg EQ/g ps muestra). Este procedimiento se efectuó con cada uno de los extractos por triplicado.

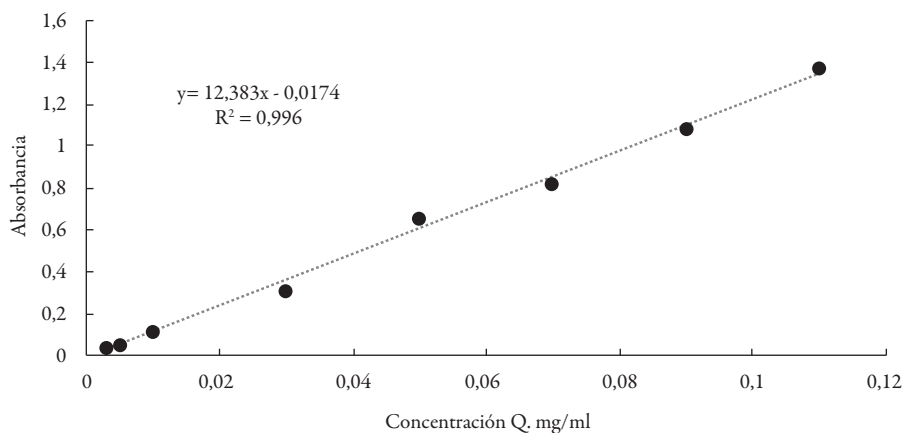


Figura 3. Curva de calibración quercetina.

Determinación de la actividad antioxidante

Se usó el método descrito por Brand-Williams, con algunas modificaciones [10]. Este método está basado en la reducción de una solución alcohólica de DPPH[•] en presencia de un antioxidante donador de hidrógeno. Se calculó la cantidad de antioxidantes necesarios en la muestra para reducir la concentración inicial de radical DPPH[•] en un 50 %. Este radical fue disuelto en MeOH o EtOH según el extracto a ensayar; se tomaron 1 ml de solución de DPPH[•] ajustada hasta tener una absorbancia de 0,9 y se agregaron alícuotas del extracto a diferentes concentraciones. Se agitó el contenido de los tubos y se dejó a temperatura ambiente durante 30 minutos en la oscuridad. Se midió la absorbancia a 515 nm y la disminución de las mismas fue registrada a intervalos de 0,5 minutos durante siete minutos. La actividad se midió en un espectrofotómetro UV-visible (UV-1800, Shimadzu®). Los resultados se expresaron como % de actividad de captación de radicales.

% de actividad de captación de radicales (% AAR) = $(1 - \text{muestra} / \text{control}) \times 100$

El valor de IC₅₀ que representa la cantidad de extracto que redujo el 50% del radical DPPH[•] se calculó a partir del porcentaje de captación versus la curva de concentración.

Medición de la capacidad antioxidante total. Método ABTS^{•+}

La preparación del radical ABTS^{•+} se realizó mediante la reacción de persulfato de potasio (2,45 mM) con ABTS^{•+} (7 mM); para esto, se colocaron 0,0033 g de persulfato de potasio y 0,0194 g del reactivo ABTS^{•+} en un frasco y se añadieron 5 ml de agua destilada. La mezcla se agitó perfectamente y el frasco se cubrió con papel aluminio dejándolo reposar 16 h en oscuridad y a temperatura ambiente [11, 12]. Posteriormente, se

diluyeron 150 μ l de radical ABTS^{•+} con 15 ml de MeOH 80 % o EtOH 70 % según corresponda, en un vaso de precipitado cubierto con papel aluminio, para obtener una absorbancia de $0,7 \pm 0,02$, a 734 nm en un espectrofotómetro UV-visible (UV-1800, Shimadzu®). A continuación, en una celda de cuarzo se colocaron 1000 μ l de la solución radical ABTS^{•+}, en la misma celda se añadieron alícuotas del extracto y se registró la absorbancia inicial. Concluida la reacción (7 minutos después) se llevó a cabo la medición de la absorbancia final.

ANÁLISIS DE DATOS

Se utilizó el procedimiento de análisis de varianza (ANOVA) mediante el programa estadístico Statgraphics Plus. Los resultados se expresaron como media/desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la determinación preliminar de la composición química de las distintas fracciones del extracto obtenido a partir de la droga seca y molida se representan en la tabla 1. La composición química de los extractos mostró la presencia de fenoles, taninos, lípidos, hidratos de carbono, esteroides y triterpenos, alcaloides, saponinas y glicósidos cianogenéticos, lo cual permitió conocer que la planta tiene compuestos de alto valor farmacológico [1, 13].

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico.

Metabolitos	Resultado
Flavonoides (Shinoda)	Negativo
OH fenólicos (reacción FeCl ₃)	Positivo: tonalidad verde-grisácea
Taninos: reacción con gelatina	Positivo: turbidez hasta precipitado
Lípidos	Positivo: mancha marrón-naranja
Hidratos de carbono (fenol)	Positivo: coloración naranja
Esteroides y triterpenos (Liebermann-Burchard)	Positivo: coloración verde azulada (grupo esteroide)
Antraquinonas (Bornträger)	Negativo
Alcaloides (Dragendorff)	Positivo: precipitado pardo anaranjado
Leucoantocianinas (Rosenheim)	Negativo
Péptidos y proteínas (Biuret)	Negativo
Saponinas (poder afrógeno)	Positivo: espuma a los 0, 5 y 15 minutos
Glicósidos cianogenéticos (Guignard)	Positivo: color rojo en papel de filtro

Los valores de fenoles totales y flavonoides para los extractos hidroalcohólicos de *P. oleracea* se presentan en la tabla 2. Se ha informado que los contenidos de fenoles y flavonoides están asociados con la actividad antioxidante en varias plantas. Los compuestos fenólicos están ampliamente distribuidos en las plantas y han ganado mucha atención debido a sus actividades antioxidante y su capacidad para eliminar los radicales libres [2]. El MeOH es el solvente más adecuado para la extracción en compuestos polifenólicos del tejido vegetal, debido a su capacidad para inhibir la acción del polifenol oxidasa que causa la oxidación de los polifenoles y su facilidad de evaporación en comparación con el agua [14]. En el extracto metanólico se encontró el valor más alto de fenoles totales ($4,75 \pm 0,17$ mg de EAG/g peso seco), en relación al extracto etanólico ($3,60 \pm 0,06$ mg de EAG/g peso seco); estos valores son mayores a lo encontrado por Uddin *et al.* [6] y por Lim y Quah [14] para la variedad de verdolaga estudiada. El contenido de flavonoides fue para el extracto metanólico de $1,64 \pm 0,04$ mg EQ/g peso seco y $1,50 \pm 0,05$ mg EQ/g peso seco para el extracto etanólico. Alam *et al.* [2], estudiaron trece variedades de extractos metanólicos de *Portulaca oleracea* L., encontraron para flavonoides variaciones entre $0,13 \pm 0,04$ a $1,44 \pm 0,08$ mg ER/g peso seco.

La actividad antioxidante se analizó utilizando la capacidad de captación de radicales libres DPPH• y ABTS^{•+} cuyos valores de IC₅₀ / % AAR) se muestran en las tablas 3 y 4.

Tabla 2. Fenoles totales y flavonoides.

Solvente	Fenoles totales (mg EAG/g peso seco)	Flavonoides (mg EQ/g peso seco)
MeOH 80 %	$4,75 \pm 0,17$	$1,64 \pm 0,04$
EtOH 70 %	$3,60 \pm 0,06$	$1,50 \pm 0,05$

Tabla 3. DPPH• (IC₅₀/% AAR).

<i>Portulaca oleracea</i> L.	Ensayo DPPH•		
	Solvente	IC ₅₀ (mg/ml)	% AAR (5 mg/ml)
	MeOH 80 %	$2,32 \pm 0,11$	80,83
	EtOH 70 %	$3,56 \pm 0,17$	69,73

Tabla 4. ABTS^{•+} (IC₅₀ /% AAR).

<i>Portulaca oleracea</i> L.	Ensayo ABTS ^{•+}		
	Solvente	IC ₅₀ (mg/ml)	% AAR (1,5 mg/ml)
	MeOH 80 %	$0,49 \pm 0,09$	91,14
	EtOH 70 %	$1,96 \pm 0,24$	42,81

La actividad de la capacidad de captación de radicales libres DPPH• del extracto metanólico fue mayor que la del extracto etanólico. Los valores de IC₅₀ para los dos extractos estudiados fueron de 2,32 ± 0,11 mg/ml y 3,56 ± 0,17 mg/ml respectivamente, indicando una actividad antioxidante más alta para el extracto metanólico. Este resultado es similar a los hallados por Alam *et al.* [2] en extractos metanólicos de *P. oleracea*, cuyo valor de IC₅₀ para la verdolaga común fue 2,52 ± 0,03 mg/ml.

En la determinación de actividad antirradicalaria se observó un porcentaje de inhibición del radical libre de 80,83% en el extracto metanólico (5 mg/ml). Sáez *et al.* [15] obtuvo un porcentaje de inhibición con DPPH• de 84% trabajando con EtOH al 80%, mientras que en nuestro estudio se observó un porcentaje menor (69,73%) usando EtOH al 70%.

Respecto de la actividad antioxidante por el método de ABTS^{•+} los valores de IC₅₀ hallados fueron significativamente más bajos para ambos extractos con respecto a la inhibición hallada con el radical DPPH•, aunque sigue manteniéndose la actividad antioxidante más alta en el extracto metanólico (0,49 ± 0,09 mg/ml) respecto del etanólico (1,96 ± 0,24 mg/ml). Estudios realizados por Gevrenova *et al.* [16] en extractos metanólicos al 80% de *P. oleracea* de origen búlgaro y griego revelaron una actividad de captación de radicales IC₅₀ de 1,98 y 2,00 mg/ml (DPPH•) y 0,88 y 0,92 mg/ml (ABTS^{•+}) respectivamente. Estos valores guardan similitud con los hallados en nuestro estudio respecto al radical DPPH•.

Los resultados demostraron que los extractos de partes aéreas de *P. oleracea* L. contienen metabolitos de interés terapéutico, y el extracto metanólico presentó una mayor capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH• y ABTS^{•+}, con respecto al etanólico; lo cual podría estar directamente relacionado con su mayor contenido de fenoles totales y flavonoides. Estos hallazgos sugieren que *P. oleracea* posee propiedades antioxidantes que la convierten en una fuente promisorias para ser utilizada con propósitos medicinales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo agradecen a la Secretaría de Investigación, Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Chaco Austral.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de interés en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Y.X. Zhou, H.L. Xin, K. Rahman, S.J. Wang, C. Peng, H. Zhang, *Portulaca oleracea* L.: A review of phytochemistry and pharmacological effects, *Biomed. Res. Int.*, **2015**, 925631 (2015).
2. M.A. Alam, A.S. Juraimi, M.Y. Rafii, A. Abdul-Hamid, F. Aslani, M.M. Hasan, M.A. Mohd-Zainudin, M.K. Uddin, Evaluation of antioxidant compounds, antioxidant activities, and mineral composition of 13 collected purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions, *Biomed. Res. Int.*, **2014**, 296063 (2014).
3. L.A. Sarmiento-Franco, O. Barrera-Ramos, W. Carrasco-Espinoza, J. Bautista-Ortega, J. *Portulaca oleracea*, Un recurso vegetal versátil en espera de ser aprovechado en el trópico, *Agroproductividad*, **9**, 61 (2014).
4. V.B. Rahimi, F. Ajam, H. Rakhshandeh, V.R. Askari, A pharmacological review on *Portulaca oleracea* L.: Focusing on anti-inflammatory, anti-oxidant, immunomodulatory and antitumor activities, *J. Pharmacopuncture*, **22**, 7 (2019).
5. A. Marzocca, *Vademécum de malezas medicinales de la Argentina: indígenas y exóticas*, Orientación Gráfica Editora S.R.L., Buenos Aires, 1997, p. 300.
6. M. Uddin, A.S. Juraimi, M. Ali, M.R. Ismail, Evaluation of antioxidant properties and mineral composition of purslane (*Portulaca oleracea* L.) at different growth stages, *Int. J. Mol. Sci.*, **13**, 10257 (2012).
7. R.V.D. Rondina, J.D. Coussio, Estudio fitoquímico de plantas medicinales argentinas, *Rev. Invest. Agrop. (Serie 2. Biología y Producción Vegetal)*, **6**, 351 (1969).
8. V.L. Singleton, R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventós, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Meth. Enzymol.*, **299**, 152 (1999).
9. M. Popova, V. Bankova, D. Butovska, V. Petkov, B. Nikolova-Damyanova, A.G. Sabatini, G.L. Marcazzan, S. Bogdanov, Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis, *Phytochem. Anal.*, **15**, 235 (2004).
10. W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT Food Sci. Technol.*, **28**, 25 (1995).

11. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.*, **26**, 1231 (1999).
12. E.M. Kuskoski, A.G. Asuero, M.C García-Parilla, A.M. Troncoso, R. Fett, Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos, *J. Food Sci. Technol.*, **24**, 691 (2004).
13. L.E. Guzmán-Heras, V. García-Mir, O. Cuesta-Rubio, C.G. Jaramillo-Jaramillo, G.E.R. Japón, Composición química y actividad antiinflamatoria de extracto de partes aéreas de *Portulaca oleracea* (verdolaga), *Rev. Cubana Farm.*, **51** (2017). URL: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/185/78>.
14. Y.Y. Lim, E.P.L Quah, Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*, *Food Chem.*, **103**, 734 (2007).
15. Y.O. Santiago-Sáenz, R. Monroy-Torres, R. Cariño-Cortés, A.D. Hernández-Fuentes, R. Jiménez-Alvarado, Caracterización fisicoquímica y propiedades antioxidantes de verdolaga (*Portulaca oleracea*) de alto consumo en el estado de Hidalgo, México, *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, **3**, 210 (2018).
16. R. Gevrenova, D. Zheleva-Dimitrova, V. Balabanova, I. Lazarova, S. Ruseva, V. Lozanov, A phytochemical study and antioxidant potential of *Portulaca oleracea* L. (Purslane) grown wild in Bulgaria and Greece, *C. R. Acad. Bulg. Sci.*, **69**, 865 (2016).

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

M.R. Gruszycki, G.M. Valenzuela, M. Báez, P.D. Leguiza, A.E. Gruszycki, D.A. Alba, Evaluación de la actividad antioxidante en extractos hidroalcohólicos de *Portulaca oleracea* L., *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **48**(2), 425-435 (2019).