

Multimed 2018; 22 (4)

JULIO-AGOSTO

ARTICULO ORIGINAL

UNIVERSIDAD DE GRANMA
CENTRO DE ESTUDIOS DE QUÍMICA APLICADA

Capacidad antioxidante in vitro de extractos etanólicos del fruto de *Luffa cylindrica* L. Roem

In vitro antioxidant capacity of ethanolic extracts of fruits of *Luffa cylindrica* L. Roem

Dr.C. Quirino Arias Cedeño, ^I Lic. Lázaro Eduardo Valdés Izaguirre^{II}, Ing. Nolberto Remón Zamora^{III}, MSc. Jorge Ramírez Arzuaga^I

^I Centro de Estudios de Química Aplicada. Facultad de Ciencias Técnicas. Universidad de Granma. Bayamo. Granma, Cuba.

^{II} Departamento de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Granma. Bayamo. Granma, Cuba.

^{III} Centro Politécnico Agropecuario Armando Mestre. Bayamo. Granma, Cuba.

RESUMEN

Luffa cylindrica L. Roem., se propaga en Cuba de forma silvestre, conocida comúnmente como estropajo ha sido poco investigada y se le atribuyen interesantes propiedades medicinales. El objetivo del trabajo fue determinar la capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos etanólicos del fruto de esta planta. Los extractos

se prepararon por maceración en etanol al 70 % y la capacidad antioxidante total determinada por espectrofotometría ultravioleta – visible. Los extractos etanólicos evaluados del fruto de *Luffa cylindrica* L., tanto en los estados inmaduro verde como maduro seco, poseen actividad antioxidante. La composición fitoquímica de los extractos se exploró cualitativamente por tamizaje fitoquímico y se pudo detectar la presencia de triterpenos, polifenoles, antocianidinas, y abundantes coumarinas en ambos extractos; así como saponinas y glicósidos en el extracto del fruto inmaduro verde, metabolitos que pudiesen ser los responsables de la capacidad antioxidante mostrada.

Palabras clave: capacidad antioxidante, *Luffa cylindrica*, tamizaje fitoquímico.
Cucurbitaceae

ABSTRACT

Luffa cylindrica L. Roem, propagated in Cuba in a wild way, commonly known as scouring pad has been little researched and interesting medicinal properties are attributed to it. The objective of the work was to determine the *in vitro* antioxidant capacity of the ethanolic extracts of the fruit of this plant. The extracts were prepared by maceration in 70 % ethanol and the total antioxidant capacity determined by ultraviolet - visible spectrophotometry. The evaluated ethanolic extracts of the *Luffa cylindrica* L. fruit, both in the green and dry mature states, possess antioxidant activity. The phytochemical composition of the extracts was explored qualitatively by phytochemical screening and it was possible to detect the presence of triterpenes, polyphenols, anthocyanidins, and abundant coumarins in both extracts; as well as saponins and glycosides in the extract of the immature green fruit, metabolites that could be responsible for the antioxidant capacity shown.

Key words: antioxidant capacity, *Luffa cylindrica*, phytochemical screening.
Cucurbitaceae

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo surge, en el organismo humano, por el desequilibrio entre la producción endógena de especies reactivas del oxígeno en los procesos del metabolismo celular, y la capacidad de neutralización de estas por las defensas antioxidantes.¹ El estrés oxidativo está relacionado fisiopatológicamente con enfermedades y alteraciones que se presentan con frecuencia en el hombre como el

cáncer, aterosclerosis, diabetes mellitus, insuficiencia renal, hipertensión arterial, osteoartritis y neuropatías, entre otras.²⁻⁵

En la actualidad el uso de terapias antioxidantes y dietas ricas o enriquecidas en antioxidantes, han mostrado cierta eficiencia para prevenir o al menos disminuir el deterioro funcional orgánico originado por una exposición prolongada al estrés oxidativo.^{2, 6, 7}

Estudios realizados con suplementos antioxidantes en la prevención del cáncer consideran que en el control del estrés oxidativo por reforzamiento de los sistemas antioxidantes resulta más recomendable incrementar el consumo de frutas y vegetales en la dieta que el uso de antioxidantes sintéticos, lo cual se ha asociado con una reducción del riesgo de enfermedades crónicas.⁷ En este sentido los antioxidantes naturales han recibido mucha atención por su menor costo, abundancia relativa en fuentes como las plantas y que frecuentemente no presentan efectos secundarios indeseables.⁸

Luffa cylindrica L. Roem, es una especie de la familia de las *Cucurbitaceae* propagada en Cuba de forma silvestre, conocida como estropajo o friega platos, utilizada tradicionalmente para tratar afecciones como eczemas, fiebre, tiña y se le atribuyen, entre otras, propiedades antiparasitarias, antimicrobianas y antiblenorrágicas.⁹

Originaria de regiones tropicales y subtropicales de Asia, el cultivo de *Luffa cylindrica* se ha extendido a otras regiones de América y África, es mayormente conocida como esponja vegetal, el fruto verde joven se consume como ensalada y en sopas por su valor nutritivo, y seco se comercializa con fines ornamentales y como esponja para aseo personal. Los mayores productores son China, Corea, Japón, India y Costa Rica.¹⁰

Estudios fitoquímicos del fruto de *Luffa cylindrica* han evidenciado la presencia de saponinas triterpénicas, terpenos en general, polifenoles generalmente glicosilados y flavonoides y reportado actividad antioxidante, antiinflamatoria, analgésica, antisquémica, entre otras importantes propiedades.¹⁰⁻¹²

A pesar de los múltiples usos de la planta, en Cuba el fruto de *Luffa cylindrica* no se aprovecha con fines alimenticios y la mayoría de las propiedades medicinales que le son atribuidas no se han comprobado, por lo que se abordó como problema de

investigación que: la creciente proliferación de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo demanda la búsqueda de productos naturales que permitan mitigar o inhibir sus efectos, y como objetivo general determinar la capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos etanólicos del fruto de *Luffa cylindrica* L. Roem.

MÉTODO

Se seleccionó la planta *Luffa cylindrica* L, atendiendo a su uso en la medicina tradicional y los reportes de sus estudios en Asia. La materia prima vegetal se recolectó manualmente en el mes de enero de 2017, en las márgenes del río Yara, municipio Yara, provincia Granma. La identificación del material vegetal se confirmó en el Laboratorio de Botánica de la Universidad de Granma y se corroboró con el ejemplar No: 14559 ubicado en BIOECO, museo Tomás Romay, en Santiago de Cuba.

El trabajo experimental se desarrolló en el Laboratorio de Productos Naturales del Centro de Estudios de Química Aplicada de la Universidad de Granma, Cuba.

El material vegetal, después de clasificado y separados los frutos inmaduros verdes (FIV) de los frutos maduros secos (FMS), se lavó y se desinfectó con hipoclorito de sodio al 0,01 %. Los FIV se trocearon hasta un tamaño aproximado de 5 mm y los FMS se secaron a la sombra a temperatura ambiente durante 72 horas, y luego por 3h a una temperatura de 40 °C en estufa con circulación de aire, marca WSU 400. La droga seca se trituró en un molino IKA Basic con cabezal de molienda MF 10.1 hasta obtener un tamaño de partícula de 1 mm.

Se procedió a elaborar los extractos etanólicos del FIV y FMS, por maceración de 100 g de droga medidos en una balanza analítica (BS 124S, SARTORIUS, Alemania) por litro de etanol al 70 %, por un tiempo de 72 horas. Los extractos se concentraron en un rotoevaporador IKA RV10 a temperatura de 40 °C, hasta obtener residuos consistentes, denominados como extractos secos, que se conservaron a 4°C para la realización de los ensayos.

Los reactivos y disolventes empleados en los análisis fueron de calidad: químicamente puros y puros para análisis. Las centrifugaciones se realizaron en una Hettich EBA20 y las determinaciones espectrofotométricas en un equipo UV-VIS, Rayleigh UV-2100.

Para la determinación de la capacidad antioxidante total (CAT) se usó el método descrito por Prieto y colaboradores.¹³ Se mezclaron 0.5 mL del extracto vegetal o del blanco (disolvente), 5 mL de disolución reactiva (0.6 mol/L de ácido sulfúrico, 28 mmol/L de fosfato sódico y 4 mmol/L de heptamolibdato de amonio) y se incubaron por 90 minutos a 95 °C. Se centrifugó por 3 minutos a 60000 rpm y se determinó la absorbancia del sobrenadante a 695 nm contra el blanco. Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido ascórbico (vitamina C) y corresponden al valor medio de tres réplicas. Se utilizaron concentraciones de los extractos secos de 5, 10 y 50 mg/mL. Para la determinación de la composición fitoquímica de los grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos secos se aplicó un conjunto de métodos específicos, rápidos y sencillos estandarizados para el tamizaje fitoquímico.¹⁴

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete GraphPad Prism v6.01 (2012) para Windows. Se realizaron cálculos de medias, desviación estándar, así como análisis de varianza (ANOVA) para determinar las diferencias estadísticas entre los valores de actividad de los distintos órganos y las diferentes concentraciones. El nivel de significación estadística se fijó para todas las pruebas en 99 % ($p < 0.01$).

RESULTADOS

Para la evaluación de la capacidad antioxidante total (CAT) de los extractos de *L. cylindrica* se construyó una recta patrón de ácido ascórbico que se muestra en la figura 1.

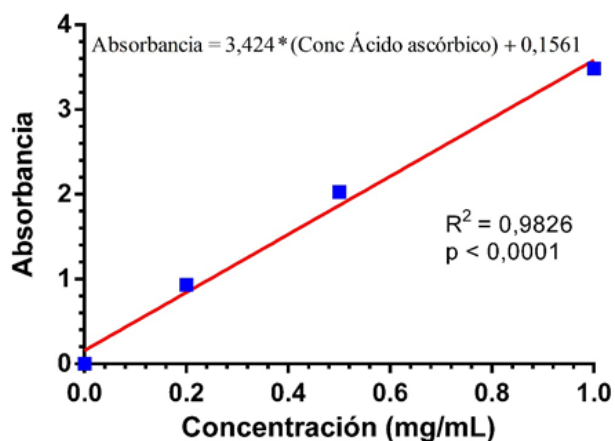


Figura 1. Curva patrón de ácido ascórbico.

Los resultados de la capacidad antioxidante total (CAT) determinada *in vitro* se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Capacidad antioxidante total de los extractos de *L. cylindrica* en mg/mL equivalentes de ácido ascórbico (Media \pm DE).

Concentración (mg/mL)	Extractos de Fruto Inmaduro Verde	Extractos de Fruto Maduro Seco
5	0.097 \pm 4E-3 ^{a, 1}	0.017 \pm 8E-4 ^{a, 2}
10	0.257 \pm 1.2E-2 ^{b, 1}	0.089 \pm 4E-3 ^{b, 2}
50	0.891 \pm 4E-2 ^{c, 1}	0.529 \pm 2.4E-2 ^{c, 2}

Letras distintas para una misma muestra indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) entre las concentraciones. Números distintos para una misma concentración representan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) entre las muestras.

Los resultados de los ensayos químicos realizados para identificar cualitativamente la composición fitoquímica de los extractos de los frutos (FIV y FMS) de *Luffa cylindrica* que potencialmente son responsables de la actividad antioxidante se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Composición fitoquímica de los extractos etanólicos de *Luffa cylindrica* L.

Metabolitos a identificar	Ensayos realizados	Extractos de FIV	Extractos de FMS
Triterpenos y esteroides	Liebermann-Burchard Vainillina ácida	+	+
Aminoácidos libres	Ninhidrina	+	+
Saponinas	Espuma	+	-
Alcaloides	Mayer	+	++
Carbohidratos reductores	Fehling	+	+
Fenoles y taninos	Cloruro férrico	+	+
Flavonoides	Shinoda	-	+
Antocianidinas	Alcohol amílico	+	+
Coumarinas	Baljet	++	++
Quinonas	Borntrager	-	+
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	+	+
Leyenda: (+) Presente, (++) Abundante, (-) Ausente			

DISCUSIÓN

La actividad antioxidante resulta complicada de medir directamente, en las técnicas de experimentación *in vitro* se mide comúnmente el efecto de los antioxidantes sobre los procesos redox y se usan patrones establecidos para estimar y comparar los resultados con una sustancia de alta actividad demostrada.

La capacidad antioxidante total de un extracto o compuesto se evalúa mediante su potencial para reducir, por múltiples mecanismos, la especie molibdeno (VI), presente en el anión molibdato, a molibdeno (V) que forma un complejo con el anión fosfato de color verde azulado. Este complejo formado presenta un máximo de absorción a 695 nm que permite su cuantificación espectrofotométrica. A diferencia de la mayoría de los métodos *in vitro* de determinación de la capacidad antioxidante, este es un método cuantitativo, por cuanto la actividad se expresa como equivalentes de ácido ascórbico (para los antioxidantes hidrosolubles) o de tocoferol (para los liposolubles).¹³

En la fig. 1 se observa el alto nivel de ajuste de la curva patrón del ácido ascórbico al modelo lineal ($R^2 = 0.9826$, $p < 0.0001$) lo que demuestra la pertinencia del método para evaluar la actividad antioxidante en función de la concentración de especies reductoras similares al ácido ascórbico.¹³ En todos los casos los valores de CAT de los extractos se corresponden con valores de equivalentes de ácido ascórbico menores a 1 mg/mL, lo que es resultado de la alta sensibilidad de este método al mecanismo antioxidante del ácido ascórbico.¹³

Los resultados de la tabla 1 evidencian que los extractos etanólicos evaluados del fruto, tanto en los estados inmaduro verde como maduros secos, poseen actividad antioxidante.

Los resultados de la capacidad antioxidante total, muestran un aumento de la actividad con el incremento de la concentración, para los dos extractos. El mayor valor de equivalentes de ácido ascórbico se obtuvo para el extracto del FIV a 50 mg/mL el cual es significativamente superior a todas las muestras ensayadas ($0.891 \pm 4E-2$ mg/mL equivalentes de ácido ascórbico).

El tamizaje fitoquímico (tabla 2) evidencia en los dos extractos la presencia de metabolitos reconocidos como especies antioxidantes como son: triterpenos, polifenoles, antocianidinas, y abundantes coumarinas, resultado que se corresponde con la literatura y que pudiesen ser los responsables de la actividad antioxidante de los extractos del fruto de *L. cylindrica*.¹¹

En todas las concentraciones ensayadas la actividad del FIV fue significativamente superior a la del FMS, lo que indica que durante el proceso de maduración o el secado se transforman o disminuyen su abundancia algunos componentes responsables de la actividad antioxidante de esta planta. La presencia de saponinas y glicósidos cardiotónicos en el FIV no detectados en el FMS pudiese ser una de las razones de la mayor actividad mostrada por este extracto.¹¹

CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos del fruto de *Luffa cylindrica* L., tanto en los estados inmaduro verde como maduro seco, poseen actividad antioxidante. La capacidad antioxidante

total es significativamente superior en el fruto inmaduro verde y aumenta con el incremento de la concentración del extracto. La presencia de triterpenos, polifenoles, antocianidinas, y abundantes coumarinas en los extractos; así como saponinas y glicósidos en el extracto del fruto inmaduro verde, pudiese explicar la capacidad antioxidante mostrada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Ann Rev Biochem* [Internet]. 2017 [citado 14 Ene 2018]; 86:715-48. Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>.
2. Zheng Y, Zhang G, Chen Z, Zeng Q. Relationship between Type 2 Diabetes and inflammation diseases: Cohort study in chinese adults. *Iran J Public Health* [Internet]. 2015 [citado 14 Ene 2018]; 44(8):1045–52. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4645724/>.
3. Lopez-Candales A, Hernández-Burgos PM, Hernandez-Suarez DF, Harris D. Linking chronic inflammation with cardiovascular disease: From normal aging to the metabolic syndrome. *J Nat Sci* [Internet]. 2017 [citado 14 Ene 2018]; 3(4):e341. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5488800/>.
4. Su F, Bai F, Zhang Z. Inflammatory cytokines and Alzheimer's disease: A review from the perspective of genetic polymorphisms. *Neurosci Bull* [Internet]. 2016 [citado 14 Ene 2018]; 32(5):469–80. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5563762/>.
5. Korniluk A, Koper O, Kemoni H, Dymicka-Piekarska V. From inflammation to cancer. *Ir J Med Sci* [Internet]. 2017 [citado 14 Ene 2018]; 186(1):57–62. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11845-016-1464-0>.
6. Valenzuela CV, Pérez PM. Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos cárnicos. *Rev Chil Nutr* [Internet]. 2016 [citado 14 Ene 2018]; 43(2):188-95.

Disponibile en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182016000200012&lang=pt.

7. García BET, Saldaña AB, Saldaña LG. El estrés oxidativo y los antioxidantes en la prevención del cáncer. Rev Hab Cien Méd [Internet]. 2012 [citado 14 Ene 2018]; 12(2):187-96. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2013000200005&script=sci_arttext&lng=pt.

8. Xu DP, Li Y, Meng X, Zhou T, Zhou Y, Zhen J, et al. Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. Int J Mol Sci [Internet]. 2017 [citado 2 Jun 2018]; 18(1): 96. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5297730/>.

9. Roig-Mesa JT. Plantas Medicinales, Aromáticas o Venenosas de Cuba. 2ª ed. La Habana: Ed. Ciencia y Técnica; 1974.

10. Sutharshana V. Protective role of *Luffa cylindrica*. J. Pharm Sci & Res [Internet]. 2013 [citado 14 Ene 2018]; 5(9):184-6. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/da40/54a72422a4bff6d2d0e781a6cc6fea5a804b.pdf>.

11. Du Q, Xu Y, Li L, Zhao Y, Jerz G, Winterhalter P. Antioxidant Constituents in the Fruits of *Luffa cylindrica* (L.) Roem. J Agric Food Chem [Internet]. 2006 [citado 14 Ene 2018]; 54(12): 4186-90. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0604790>.

12. Rawat I, Sharma D, Chandra GH. Antioxidant and anti-inflammatory potential of some dietary cucurbits. Oxid Antioxid Med Sci [Internet]. 2014 [citado 14 Ene 2018]; 3(1):65-72. Disponible en: <https://www.ejmanager.com/mnstemps/65/65-1385120181.pdf?t=1535370194>.

13. Prieto P; Pineda M; Aguilar M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. Analytical Biochemistry [Internet]. 1999 [citado 14 Ene 2018], 269:337-341. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269799940198?via%3Dihub>.

14. Thangaraj P. Preliminary Phytochemical Studies. En: Pharmacological Assays of Plant-Based Natural Products. Cham (Suiza): Springer International Publishing; 2016. p. 15–20.

Recibido: 4 de mayo de 2018.

Aprobado: 19 de junio de 2018.

Quirino Arias Cedeño. Centro de Estudios de Química Aplicada. Facultad de Ciencias Técnicas. Universidad de Granma. Granma, Cuba. Email: gariasc@udg.co.cu.