

Tamizado de plantas de zonas de reserva Risaralda-Colombia con capacidad antioxidante

Screening of plants of the zones of reservation of Risaralda-Colombia with antioxidant capacity

Jennifer Tovar-Del Río^I, Oscar M. Mosquera-Martínez^{II},
César Augusto Martínez-García, Jaime Niño-Osorio.

Resumen: Dado que Colombia es un país que posee un gran número de zonas naturales protegidas y vastas regiones selváticas ubicadas a lo largo del territorio nacional albergando plantas, animales y microorganismos, existe un gran potencial para proporcionar al hombre compuestos biológicamente activos que puedan ser utilizados como nuevos fitofármacos o agentes biocidas. De ahí la necesidad de realizar estudios que planteen la potencial utilización sostenible de la mega diversidad proveniente de los recursos naturales nacionales que permitan detectar aquellas especies con actividades biológicas importantes.

Objetivo: realizar dos tipos de ensayos *in vitro* para la determinación de la actividad antioxidante de plantas pertenecientes a zonas de reserva de la Ecorregión Cafetera Colombiana (ECC) con el fin de identificar las especies poseedoras de la capacidad antioxidante más alta.

Metodología: A través de dos ensayos colorimétricos *in vitro* con los radicales 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH[•]) y Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS^{•+}), se determinó la capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos metanólicos y de diclorometano de 30 plantas pertenecientes a las familias Apiaceae, Apocynaceae, Asclepidaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, Melastomataceae, Passifloraceae, Piperaceae, Rubiaceae y Solanaceae, recolectadas en el Parque Regional Natural Ucumarí (Risaralda Colombia) y Bremen La Popa (Filandia-Quindío); usando como control positivo hidroquinona.

I Grupo de Biotecnología-Productos Naturales (GBPN), Escuela de Tecnología Química. Universidad Tecnológica de Pereira (UTP), Pereira, Colombia
II Correo e: omosquer@utp.edu.co

Resultados: Los extractos metanólicos mostraron un porcentaje de actividad antioxidante mayor comparados con los de diclorometano.

Conclusiones: Los valores de IC_{50} de actividad antioxidante más destacados lo presentaron *Topobea cf discolor* (Melastomataceae, IC_{50} DPPH: 49,18 $\mu\text{g/mL}$), *Alchornea grandis* (Euphorbiaceae, IC_{50} DPPH: 7,24 $\mu\text{g/mL}$) y *Tovomita guianensis* (Clusiaceae, IC_{50} : 31,52 $\mu\text{g/mL}$) para los extractos metanólicos mediante el ensayo colorimétrico con el radical DPPH.

Palabras Clave: Actividad antioxidante, Biodiversidad, Bioprospección, *Topobea cf discolor*, *Alchornea grandis*, *Tovomita guianensis*.

Abstract: Given that Colombia is a country with a large number of natural protected zones and large rainforests regions located throughout the country hosting plants, animals and microorganisms, there exists a huge potential to bring the mankind biologically active compounds that can be used as new drugs or biocides. Hence the need for developing studies to propose the potential sustainable use of the mega biodiversity from the national natural resources to identify species with important biological activities.

Aim: Perform two types of *in vitro* colorimetric assays in order to determine the antioxidant activity of plants belonging to natural protected zones from the Colombian Coffee Ecoregion (CCE) to identify the species possessing the highest antioxidant capacity.

Methodology: Through two *in vitro* colorimetric assays with the radicals 1,1-diphenyl-2-picryl-hidrazilo (DPPH) and 2,2'-bis-3 azino-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS⁺) the antioxidant activity of the methanolic and dichloromethane extracts of 30 plants belonging to Apiaceae, Apocynaceae, Asclepidaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, Melastomataceae, Passifloraceae, Piperaceae, Rubiaceae and Solanaceae families was determined. Those plants were collected in the Regional Park Natural Ucumari (Risaralda Colombia) and Bremen La Popa (Finlandia-Quindio); using as positive control hydroquinone.

Results: methanolic extracts showed a higher percentage of antioxidant activity compared to dichloromethane.

Conclusions: The higher IC_{50} values of antioxidant activity highlights were displayed by *Topobea cf discolor* (Melastomataceae, IC_{50} DPPH: 49.18 $\mu\text{g/mL}$) *Alchornea grandis* (Euphorbiaceae, IC_{50} DPPH: 7.24 $\mu\text{g/mL}$) and *Tovomita guianensis* (Clusiaceae, IC_{50} DPPH: 31,52 $\mu\text{g/mL}$) for the methanolic extracts through the DPPH colorimetric assay.

Keywords: Antioxidant activity, Bioprospection, *Topobea cf discolor*, *Alchornea grandis*, *Tovomita guianensis*.

1. INTRODUCCIÓN

Los pro-oxidantes son conocidos por ser especies altamente reactivas de oxígeno y de nitrógeno (ERON) que están presentes en los sistemas biológicos y provienen de una amplia variedad de fuentes (Carocho y Ferreira, 2013). Las ERON más representativas son: especies radicalarias como el radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxilo ($\cdot OH$), óxido nítrico (NO^{\cdot}), hidroperoxilo (HO_2^{\cdot}), peroxilo (RO_2^{\cdot}), alcoxilo (RO^{\cdot}) y especies no radicalarias como el ácido hipocloroso ($HOCl$), peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el oxígeno singlete (1O_2) (Carocho et al., 2013).

Por otro lado, los antioxidantes son moléculas con capacidad de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas; actúan antes o durante una reacción en cadena de radicales libres; ya sea en la iniciación, propagación, terminación, descomposición o en la subsecuente oxidación de los productos (Cardoso et al., 2005). Un desequilibrio entre los pro-oxidantes y los mecanismos biológicos de defensa antioxidantes ocasionan estrés oxidativo (Liu et al., 2011).

El estrés oxidativo es un fenómeno causante de muchas enfermedades neurodegenerativas, como la aterosclerosis, la enfermedad de Parkinson, encefalopatía miálgica, sensibilidad química múltiple, la enfermedad de Alzheimer, entre otras, y una posible manera de controlar este desequilibrio y evitar el desarrollo de estas afecciones es mediante la utilización de moléculas antioxidantes (Mbaebie et al., 2012).

Así como los sistemas biológicos poseen mecanismos de defensa frente a las EROS, se han desarrollado también antioxidantes sintéticos como una fuente externa complementaria para contrarrestar las lesiones oxidativas (Hinneburg et al., 2006). Mediante investigaciones se ha descubierto que algunos antioxidantes sintéticos tales como el BHA y el BHT (Moure *et al.*, 2001) ofrecen baja seguridad de consumo, mostrando efectos nocivos para el hombre y el medio ambiente, razón por la cual se ha incrementado significativamente el interés por los antioxidantes naturales, los cuales ofrecen una amplia variedad de fuentes fitoquímicas de alta eficacia (Dorman et al., 2004), taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavonas, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas, los cuales debido a sus propiedades red-ox pueden actuar como donantes de hidrógeno, y de

esta manera ayudar con el tratamiento o la prevención de la incidencia de ciertas enfermedades (Marwah et al., 2005).

Por lo anterior, se pretende encontrar antioxidantes naturales en especies de la flora colombiana, particularmente de plantas recolectadas en las zonas de reserva Parque Regional Natural Ucumarí (Pereira-Risaralda) y Bremen la Popa (Filandia-Quindío); las cuales pueden contribuir en la búsqueda de fuentes que inhiban las ERO.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Equipos

Para la preparación de las soluciones estándares y las muestras vegetales a evaluar se usaron una balanza análítica Ohaus Adventure (New Jersey, USA), micropipetas Eppendorf de capacidad de 0-10, 10-100 y 100-1000 μ L (Hamburgo, Alemania). El material de vidrio empleado en todas las determinaciones fue Schott-Duran (Tirschenreuth, Alemania), el rotaevaporador utilizado para la obtención de los extractos secos de las plantas a evaluar fue un laborata 4000 Heidolph (Bayer, Alemania), y el espectrofotómetro utilizado en los ensayos colorimétricos para estimar la capacidad antioxidante de los extractos vegetales fue un UV-Vis light 5X Schott Instruments (Tirschenreuth, Alemania).

2.2 Reactivos

Los radicales 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) 99,9% y ácido 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzotiazolina-6-sulfónico) \geq 98% (ABTS⁺) empleados en la evaluación de la actividad antioxidante, al igual que las sustancias utilizadas como estándares de referencia 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (TROLOX) y ácido gálico fueron Sigma-Aldrich (Missouri, Estados Unidos). La hidroquinona utilizada como control positivo antioxidante era Merck (Darmstadt, Alemania). Los solventes grado analítico utilizados para la extracción y las determinaciones experimentales fueron metanol, acetonitrilo e isopropanol marca Mallinckrodt (Kansas City, Missouri, USA).

2.3 Obtención de los extractos vegetales

En la tabla 1 se presentan las plantas recolectadas en las zonas de estudio (Reserva Natural Bremen-La Popa y el Parque Regional Natural Ucumarí) y el número del voucher FJR de identificación (código del herbario de la Universidad de Antioquia).

Para dicha tarea se recolectó la parte aérea (hojas y ramas) de cada una de las especies mencionadas.

Tabla 1. Plantas recolectadas en las diferentes zonas de reserva de la región cafetera

FAMILIA	ESPECIE	CÓDIGO	
		FJR (Voucher)	UTP
Apiaceae	<i>Arracacia elata</i>	4001	153
Apocynaceae	<i>Mandevilla veraguensis</i>	3955	200
Asclepidaceae	<i>Blepharodon bifidus</i>	3999	151
	<i>Blepharodon grandifolium</i>	4055	201
Rubiaceae	<i>Palicourea petiolaris wemh</i>	3182	28
	<i>Palicourea andaluciana Standl</i>	3183	29
	<i>Palicourea thyrsglora (Ruiz & Pav) DC.</i>	3184	30
Piperaceae	<i>Peperomia acuminata</i>	4002	154
	<i>Piper crassinervium</i>	4030	175
	<i>Piper glanduligerum</i>	4026	172
	<i>Piper calceolarium</i>	4048	194
	<i>Piper Daniel-gonzalezii</i>	4051	197
Solanaceae	<i>Witheringia coccoloboides</i>	4019	165
	<i>Cestrum humboldtii</i>	4022	168
	<i>Browallia speciosa</i>	4025	171
	<i>Solanum ovalifolium</i>	4027	173
	<i>Solanum brevifolium</i>	4028	174
	<i>Solanum acerifolium</i>	4053	199
Melastomataceae	<i>Tibouchina</i>	4040	185
	<i>Topobea cf discolor</i>	4009	160
Euphorbiaceae	<i>Acalypha macrostachya</i>	4050	196
	<i>Alchornea grandis</i>	4056	202
Passifloraceae	<i>Passiflora apoda</i>	3988	141
	<i>Passiflora antioquiensis</i>	4000	152
	<i>Passiflora rubra</i>	4038	183
	<i>Passiflora danielli</i>	4037	182
Clusaceae	<i>Clusia multiflora</i>	4006	157
	<i>Tovomita guianensis</i>	4008	159
	<i>Vismia laevis</i>	4039	184
	<i>Chrysoclamys floribunda</i>	4035	180

La parte aérea de las plantas en estudio se secaron a 50°C, y posterior a ellos fueron molidas. El material resultante se sometió a maceración pasiva con diclorometano y metanol repetidamente.

De cada una de los extractos de las diferentes especies de plantas se preparó una solución madre de 5000 µg/mL y a partir de la que se prepararon las diluciones requeridas para los ensayos. Los extractos metanólicos se disolvieron en un sistema agua-etanol (7:3 v/v) mientras que para los extractos de diclorometano se usó un sistema butanol-etanol-agua (2:6:2 v/v).

2.4 Determinación de la actividad antioxidante a través del ensayo DPPH•

La determinación de la actividad antioxidante de los diferentes extractos vegetales se llevó a cabo de acuerdo con el método Brand–Williams *et al.*, (1995), con ligeras modificaciones. Cada extracto vegetal se evaluó a 1000 µg/mL, mezclando 250 µL de cada uno de ellos con 1 mL de una solución de DPPH• (20 µg /mL) recién preparada, después cada muestra fue agitada vigorosamente y mantenida en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posterior a ello, se determinó la absorbancia de cada muestra a 517 nm.

Los extractos que presentaron una actividad mayor al 25% a 1000 µg/mL, se evaluaron posteriormente en concentraciones de 500, 250, 100, 50 y 10 µg/mL para la determinación del IC₅₀. Como control positivo se utilizó una solución de hidroquinona a 1000 µg /mL; como control negativo se usó el sistema de dilución que correspondiente según cada caso. El blanco fotométrico de cada extracto fue preparado a partir de 250 µL del extracto en análisis y 1 mL de metanol.

Cada muestra se midió por triplicado y en dos repeticiones independientes. Para cada extracto los resultados se expresaron como la concentración de la media inhibitoria en µg/mL y como equivalentes de Trolox en unidades de µg de Trolox/g de extracto.

A partir de las absorbancias obtenidas se determinó el porcentaje de actividad antioxidante para cada concentración de acuerdo con la siguiente ecuación (Murillo *et al.*, 2007):

$$\% \text{Actividad Antioxidante} = \left[\frac{A_{\text{control}(-)} - (A_{\text{extracto}} - A_{\text{blanco extracto}})}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

Donde:

A_{Extracto} es la absorbancia de la mezcla de los extractos con la solución de DPPH; $A_{\text{Banco extracto}}$ es la Absorbancia de los extractos sin adicionar la solución de DPPH y A_{Control} (-) absorbancia del DPPH sin adicionar los extractos.

2.5 Determinación de la actividad antioxidante a través del ensayo ABTS⁺

De acuerdo con lo planteado previamente, se analizaron los extractos activos (actividad antioxidante > 25% a 1000 µg/mL) mediante el ensayo con DPPH, evaluándolos a concentraciones de 10, 50, 100, 250 y 500 µg/mL para la determinación del IC_{50} .

La actividad inhibidora del radical catión ABTS⁺ de los extractos a diferentes concentraciones, se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Re *et al.*, (1999), con algunas modificaciones. Para la preparación de la solución de ABTS⁺ se pesaron 77.6 mg del reactivo ABTS y se adicionaron 20 mL de agua destilada para obtener una concentración de 7 mM en solución acuosa, se incubó durante 12 horas y antes del ensayo se ajustó su absorbancia a 0.7.

Se hizo reaccionar 50 µL de cada una de las soluciones preparadas con los extractos vegetales con 1450 µL de la solución ABTS⁺. Después de homogenizar la mezcla, esta fue incubada en ausencia de luz a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posteriormente, se midió la absorbancia de cada muestra a 732 nm en un espectrofotómetro UV.

Como control positivo se utilizó una solución de hidroquinona a una concentración de 1000 µg/mL; como control negativo se empleó la mezcla de solventes utilizada para la dilución de los extractos vegetales correspondiente, según el caso. El blanco fotométrico de los extractos se preparó a partir de 50 µL de las soluciones de extracto vegetal y 1450 µL de la mezcla de agua y etanol empleada para ajustar la absorbancia de la solución de ABTS⁺. Para cada extracto los resultados se reportaron como la concentración de la media inhibitoria (IC_{50}) en µg/mL y como equivalentes de Trolox en unidades de µg de Trolox/g de extracto.

La capacidad antioxidante evaluada mediante el ensayo con el catión radical ABTS⁺ también fue calculada por medio de la ecuación mencionada.

3. RESULTADOS

En esta investigación se midió el porcentaje de actividad antioxidante de los diferentes extractos a través de dos métodos colorimétricos *in-vitro* con las especies radicalarias sintéticas DPPH[•] y ABTS^{•+}, puesto que estos son los más utilizados en los laboratorios del mundo debido a que indican de manera general, la capacidad de las sustancias para donar hidrógenos o captar electrones. De los 30 extractos metanólicos evaluados, 15 presentaron un porcentaje de actividad antioxidante mayor al 25% (considerados como extractos activos), mientras que para los extractos de diclorometano, solo 5 obtuvieron este porcentaje de actividad.

En la tabla 2 se presentan los extractos activos de metanol y diclorometano. Se puede observar que las especies más destacadas por sus concentraciones altas de equivalentes Trolox en los extractos metanólicos son *Topobea cf discolor* (UTP 160, IC₅₀ DPPH[•]: 49,18 µg/mL) perteneciente a la familia de las Melastomataceae y *Alchornea gaudis* (UTP 202, IC₅₀ DPPH[•]: 7,24 µg/mL) perteneciente a la familia de las Euphorbiaceae. Adicionalmente, los valores en equivalentes de Trolox para el ensayo con DPPH[•] fueron de 49,78 y 44,06 µg de Trolox/g de extracto, respectivamente, y los valores en equivalentes de Trolox para el ensayo con ABTS^{•+} fueron de 852 y 862,11 µg de Trolox/g de extracto, respectivamente.

Tabla 2. Porcentaje de actividad antioxidante a través de los métodos de DPPH[•] y ABTS^{•+} de los extractos metanólicos y de diclorometano de las especies vegetales analizadas.

COD UTP	Nombre de la planta	DPPH [•]				ABTS ^{•+}			
		Metanol		Diclorometano		Metanol		Diclorometano	
		IC50	ET	IC50	ET	IC50	ET	IC50	ET
29	Palicourea andaluciana Standl	137,6	27,01			3588	212,72		
30	Palicourea thyrsglora DC.	65,1	27,01			478,9	145,23		
141	Passiflora apoda	48,21	29,35			3466	208,91		
157	Clusia multiflora	70,81	32,89	52,94	27,58	2032	341,84	374,5	439,25
159	Tovomita guianensis	31,52	29,49	71,09	46,55	1023	288,27	ND	285,77
160	Topobea cf discolor	49,18	49,78			2886	852,00		
175	Piper crassinervium	252	25,15	169,9	34,51	ND	203,02	4616	291,56
180	Chrysoclamys floribunda	ND	23,35	47,11	28,88	1013	323,38	3822	428,86
182	Passiflora danielli	967,3	25,25			2115	169,16		
183	Passiflora rubra	45,08	31,7			ND	159,10		

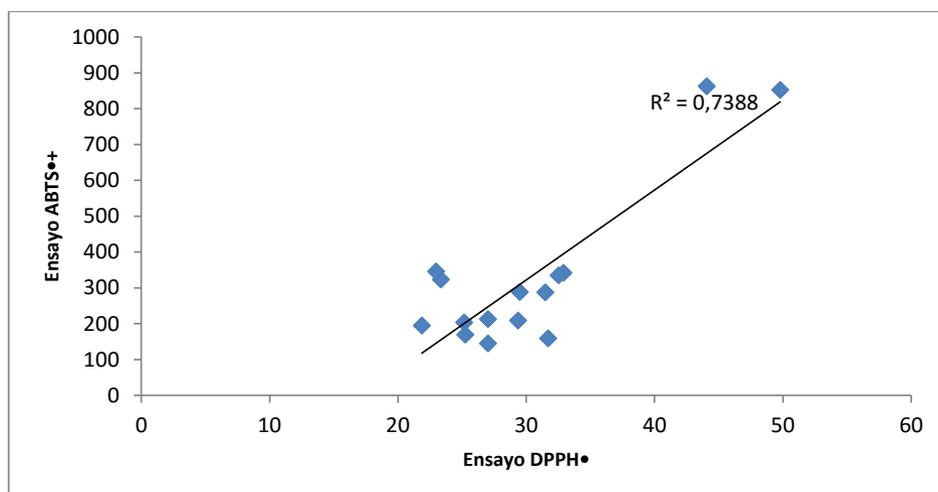
COD UTP	Nombre de la planta	DPPH*				ABTS**			
		Metanol		Diclorometano		Metanol		Diclorometano	
		IC50	ET	IC50	ET	IC50	ET	IC50	ET
184	<i>Vismia laevis</i>	35,64	31,49	195	17,29	1865	287,62	1224	134,84
199	<i>Solanum acerifolium</i>	141,3	21,86			ND	194,77		
200	<i>Mandevilla vera-guensis</i>	54,01	32,52			ND	335,07		
201	<i>Blepharodon grandifolium</i>	298,1	22,96			536	346,02		
202	<i>Alchornea grandis</i>	7,24	44,06			ND	862,11		

Nd. No determinado.

Para los extractos de diclorometano, las especies más destacadas son *Tovomita guianensis* (UTP 159, IC₅₀ DPPH: 71,09 µg/mL) y *Clusia multiflora* (UTP 157, IC₅₀ DPPH: 52,94 µg/mL) pertenecientes a la familia Clusiaceae, con valores de 46,55 y 27,58 µg de Trolox/g de extracto respectivamente para el ensayo con DPPH. De manera similar, para el ensayo con ABTS⁺ las especies más destacadas *Clusia multiflora* (UTP 157, IC₅₀ ABTS⁺: 374,5 µg/mL) y *Chrysoclamys floribunda* (UTP 180, IC₅₀ ABTS⁺: 3822 µg/mL) pertenecientes a la familia Clusiaceae con valores de 439,25 y 428,86 µg de Trolox/g de extracto, respectivamente.

En estos valores se puede observar claramente que mediante el ensayo ABTS⁺ se obtuvieron porcentajes de actividad antioxidante mucho más altos que por medio del ensayo DPPH, lo cual concuerda con otros datos reportados por Floegel *et al.*, (2011). Se encontró también una alta correlación entre ambos ensayos (DPPH y ABTS⁺), tal como se observó en otros trabajos (Babbar *et al.*, 2011 y Floegel *et al.*, 2011).

A pesar de las diferencias entre la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos y las discrepancias existentes en el mecanismo de acción de cada radical y las condiciones de reacción en los dos métodos empleados, se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,7388 entre ambos (Figura 1), con lo que se demuestra concordancia entre las estimaciones de capacidad antioxidante obtenidas por ambos ensayos colorimétricos, siendo viable la comparación entre los resultados de ambos experimentos (Surveswaran *et al.*, 2007). En contraste para los extractos de diclorometano la correlación entre ambos ensayos fue muy baja con un coeficiente de R²: 0,056.

Figura 1. Correlación entre el ensayo de ABTS⁺ y el ensayo de DPPH.

4. DISCUSIÓN

Se observaron diferencias entre los dos ensayos de captura de radicales libres (DPPH y ABTS⁺) empleados. Ambos ensayos miden la capacidad de los antioxidantes presentes en una muestra para capturar el radical libre preformado, sin embargo sus condiciones de reacción y cinética son diferentes. Además, otra importante diferencia entre ambos ensayos es que el ABTS⁺ puede medir actividad antioxidante en medio orgánico u acuoso teniendo en cuenta la naturaleza hidrofílica o lipofílica de los compuestos en la muestra (Wojdylo *et al.*, 2007). Contrario a esto, el ensayo con DPPH solo se puede realizar en un medio orgánico, lo cual constituye una limitante al momento de interpretación de la capacidad antioxidante de los compuestos hidrofílicos presentes en una muestra (Surveswaran *et al.*, 2007), situación que justifica las diferencias evidenciadas entre ambas determinaciones colorimétricas.

En este trabajo las familias más efectivas en la captura de radicales libres fueron la familia Clusiaceae, familia de donde todos los extractos evaluados fueron activos y las familias Euphorbiaceae y Melastomataceae, puesto que especies pertenecientes a ellas presentaron los porcentajes de actividad antioxidante más altos. Estos hallazgos concuerdan con lo reportado en otros trabajos realizados. Es así, que Stashenko *et al.*, (2007), determinó que la especie *Phyllanthus acuminatus* (Euphorbiaceae), tiene un alto potencial antioxidante con un IC₅₀: 0,092 µg/mL, y por otra parte, debido al alto contenido de flavonoides presentes en *Acalypha fruticosa* Forssk. (Euphorbia-

ceae), Tambiraj *et al.*, (2012) evaluó su capacidad de captura de electrones. Muchos autores han confirmado que las propiedades antioxidantes de los miembros de la familia Euphorbiaceae se deben principalmente a la presencia de un alto contenido de flavonoides (Subhan *et al.*, 2008; Kadri *et al.*, 2011; Koffur *et al.*, 2011).

En la familia Melastomataceae también se han reportado especies con potencial antioxidante; por ejemplo, Susanti *et al.*, (2007) encontró que el extracto metanólico de *Melastoma malabathricum* L. presentó un porcentaje de actividad antioxidante del 59,3%. En todos los casos mencionados los autores reportan alto contenido de compuestos tales como fenoles y flavonoides en los extractos evaluados. En la revisión literaria se encontró que la familia *Clusiaceae* se caracteriza por ser rica en metabolitos como xantonas, triterpenos, flavonoides, lactonas y ácidos orgánicos; así como también una serie de benzofenonas preniladas (Cuesta-Rubio *et al.*, 2005). Dado que las especies de diclorometano que presentaron valores destacados pertenecen también a estas familias de plantas, su actividad antioxidante podría atribuirse a la presencia dichos metabolitos.

Los compuestos fenólicos están ampliamente distribuidos en las plantas y muchos de ellos se comportan como agentes reductores, presentando actividad antioxidante y potencial en la captura de radicales libres (Surveswaran *et al.*, 2007). Los fenoles y polifenoles exhiben sus efectos protectores a través de muchos mecanismos, tales como bloqueo, interferencia o inhibición las enzimas involucradas en la generación de las especies reactivas de oxígeno, captura de radicales libres o quelación de metales de transición para inactivar dichas especies (Wong *et al.*, 2006). De acuerdo con lo anterior, el potencial antioxidante de *Topobea cf discolor* (UTP 160) y *Alchornea Grandis* (UTP 202) y *Tovomita Giancesis* (UTP 159 DCM) podría deberse a su contenido de fenoles y polifenoles.

En conclusión se evaluó la capacidad antioxidante de los extractos de metanol y diclorometano de 30 plantas de la ECC, a través de los ensayos de DPPH[•] y ABTS⁺. Se encontró alto potencial antioxidante en los extractos metanólico de *Topobea cf discolor* (Melastomataceae) y *Alchornea grandis* (Euphorbiaceae) y en el extracto de diclorometano de *Tovomita guianensis* (Clusiaceae), por lo cual se debe profundizar en el estudio de los metabolitos secundarios presentes en dichas plantas y a los cuales se les pueda atribuir la actividad antioxidante encontrada.

5. AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Tecnológica de Pereira (UTP) y al CIEBREG por el financiamiento del proyecto y la Corporación Autónoma Regional de Risaralda (CARDER) por conceder el permiso para acceder a las plantas.

6. CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no tienen conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Babbar, N., Oberoi, H. S., Uppal, D. S., Patil, R. T. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues, *Food Research International*, 44, 391–396.
- Brand-Williams, B., Berset, W. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH[•] free radical method, *LWT - Food Science and Technology*, 30, 609-615.
- Cardoso C. L., Silva H. S., Castro-Gamboa, I., Bolzani V. S. (2005). New Biflavonoid and Other Flavonoids from the Leaves of *Chimarrhis turbinata* and their Antioxidant Activity, *Journal of Brazilian Chemical Society*, 16, 1353-1359.
- Carocho, M., Ferreira, I. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15–25.
- Cui, K., Luo, X., Xu, K., Ven, M. M. R. (2004). Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28, 771-799.
- Dorman, H. J. D., Hiltunen, R. (2004). Fe (III) reductive and free radical scavenging properties of summer savory (*Satureja Hortensis L.*) extract and subfractions, *Food chemistry*, 88, 193-199.
- Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S. J., Koo, S. I., Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 1043–1048.
- Hinneburg, I., Dorman, H. J. D., Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*, 97, 122–129.
- Kadri, A., Gharsallah, N., Damak, M., Gdoura, R. (2011). Chemical composition and in vitro antioxidant properties of essential oil of *Ricinus communis L.*, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 1466-1470.

- Koffuor, G. A., Amoateng, P. (2011). Antioxidant and anticoagulant properties of *Phyllanthus fraternus* GL. Webster (Family: Euphorbiaceae), *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 6, 624-636.
- Liu, J., Wang, C., Wang, Z., Zhang C., Lu, S., Liu, J. (2011). The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides, *Food Chemistry*, 126, 261–269.
- Marwah, R. G., Fatope, M. O., Mahrooqi, R. A., Varma, G. B., Abadi, H. A., Khamis, S. B. (2007). Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman, *Food chemistry*, 101, 465-470.
- Mbaebie, B. O., Edeoga, H. O., Afolayan, A. J. (2012). Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq., *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2, 118-124.
- Moure, A., Cruz, M. J., Franco, D., Domínguez, J., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M., Parajó, J. (2001). Natural antioxidants from residual sources, *Food Chemistry*, 72, 145-171.
- Murillo, J. (2004). Las *Euphorbiaceae* de Colombia-Biota colombiana, *Instituto de investigación de recursos biológicos Alexander Von Humboldt.*, 5, 183-199.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.
- Stashenko, E., Martinez, J., Vasquez, A., Cala M. (2007). Caracterización de compuestos fenólicos por electroforesis capilar de la especie *phyllanthus acuminatus* (euphorbiaceae) y estudio de su actividad antioxidante. *Scientia et Technica*, 1, 33.
- Subhan, N., Alam, M. A., Ahmed, F., Awal, M. A., Nahar, L., Sarkar, S. D. (2008). In vitro antioxidant property of the extract of *Excocaria agallocha* (Euphorbiaceae), *DARU*, 16(3), 149-154.
- Surveswaran, S., Cai, Y. Z., Corke, H., Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants, *Food Chemistry*, 102, 938–953.
- Susanti, D., Surat, H., Ahmad, F., Mat, A. R., Aimi, N., Kitajima, M. (2007). Antioxidant and cytotoxic flavonoids from the flowers of *Melastoma malabathricum* L., *Food Chemistry*, 103, 710-716.
- Thambiraj, J., Paulsany, S., Sevukaperumal, R. (2012). Evaluation of *in vitro* antioxidant activity in the traditional medicinal shrub of western districts of Tamilnadu, India, *Acalypha fruticosa* Forssk. (Euphorbiaceae), *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S127-S130.

Wong, S. P., Leong, L. P., Koh, J. H. W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants, *Food Chemistry*, 99, 775-783.

Referencia	Fecha de recepción	Fecha de aprobación
Jennifer Tovar-Del Río, Oscar M. Mosquera-Martínez, César Augusto Martínez-García, Martínez, Jaime Niño-Osorio. Tamizado de plantas de zonas de reserva risaralda-colombia con capacidad antioxidante. Revista Tumbaga (2014), 9 vol. II.	Día/mes/año 02/08/2014	Día/mes/año 30/11/2014