

Artículo Original

Compuestos bromofenólicos y actividad antioxidante de extractos del alga roja *Polysiphonia paniculata* montagne**Bromophenolic compounds and antioxidant activity of red algae extracts *Polysiphonia paniculata* Montagne**Belén González^{1*}, Cesar Fuertes¹, Carlos Yauri¹, Kurwoll Vega¹

* Autor para correspondencia

¹ Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara"

Belén González. Email: bgonzalez2101@gmail.com

Cesar Fuertes. Email: cfuertes@unmsm.edu.pe

Carlos Yauri. Email: carlos.yc.qf@gmail.com

Kurwoll Vega. Email: kurwoll.vega@unmsm.edu.pe

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivos identificar la presencia de compuestos bromofenólicos, así como evaluar y comparar la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos etéreo, diclorometánico y etanólico obtenidos del alga *Polysiphonia paniculata* Montagne, mediante el método DPPH (1,1-difenil-β-picrilhidrazilo), método de captura de radicales. Diversas especies del género *Polysiphonia*, de la familia Rhodomelaceae, han sido reportadas por presentar compuestos bromofenólicos con actividad antioxidante. Los resultados de la marcha fitoquímica revelaron la presencia de compuestos fenólicos según el perfil cromatográfico en capa delgada y el espectro IR (fenoles bromados), en los extractos etéreo (muy ligeramente) y diclorometánico. Los resultados del método DPPH revelaron que el extracto diclorometánico presenta mayor actividad antioxidante en comparación con los extractos etéreo y etanólico. Se obtuvieron los siguientes porcentajes de capacidad antioxidante (400 μg/mL): Extracto diclorometánico = 74%, extracto etéreo = 35.1% y extracto etanólico = 22.3%, comparado con la Vitamina C, que presentó un porcentaje de actividad antioxidante de 83.0% (2.4 μg/mL). El espectro Infrarrojo del extracto diclorometánico exhibió una banda de absorción para grupos hidroxilo a 3327 cm⁻¹, banda de absorción para grupos aromáticos a 1546 cm⁻¹ y 1463 cm⁻¹ y banda de absorción para Bromo a 719 cm⁻¹.

Se concluye que el extracto diclorometánico presenta mayor actividad antioxidante atribuido a la presencia de compuestos bromofenólicos de baja polaridad.

Palabras clave: Rodophyta; Polysiphonia; bromofenol; actividad antioxidante; DPPH; espectro IR.

Correspondencia:

Nombre: Belén Guadalupe Gonzáles Gonzáles

Dirección: Jr. Puno 1002 Lima. Correo: bgonzalez2101@gmail.com

Recibido: 28/03/2017

Aceptado: 27/09/2017

Citar como:González B, Fuertes C, Yauri C, Vega K. Compuestos bromofenólicos y actividad antioxidante de extractos del alga roja. *Polysiphonia paniculata* montagne. *Ciencia e Investigación* 2017 20(1):9-14.

© Los autores. Este artículo es publicado por la Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

Abstract

The present study had as objectives to identify the presence of phenolic compounds, as well as to evaluate and compare the *in vitro* antioxidant activity of the ethereal, dichloromethane and ethanolic extracts obtained from the algae *Polysiphonia paniculata* Montagne, using the DPPH method (1,1-diphenyl- β -picrilhydrazyl), radical scavenging method. Several species of the genus *Polysiphonia*, from the family Rhodomelaceae, have been reported to present bromophenolic compounds with antioxidant activity. Phytochemical screening results revealed the presence of phenolic compounds according to the thin layer chromatographic profile and the IR spectrum in ethereal (very slightly) and dichloromethane extracts. The results of the DPPH method revealed that the dichloromethane extract had higher antioxidant activity compared to ethereal and ethanolic extracts. The following percentages of antioxidant capacity were obtained (at 400 μ g/mL): Dichloromethane extract = 74%, ethereal extract = 35.1% and ethanolic extract = 22.3%, compared to Vitamin C, which presented a percentage of antioxidant activity of 83.0% (2.4g μ g/mL). The Infrared spectrum of the dichloromethane extract exhibited an absorption band for hydroxyl groups at 3327 cm^{-1} and absorption bands for aromatic groups at 1546 cm^{-1} and 1463 cm^{-1} and Bromine at 719 cm^{-1} . It is concluded that the dichloromethane extract has higher antioxidant activity attributed to the presence of low polar phenolic compounds.

Keywords: Rodophyta; Polysiphonia; bromophenol; antioxidant activity; DPPH; IR spectrum .

INTRODUCCIÓN

Las especies oxígeno reactivas (ROS) como el radical superóxido, peróxido de hidrógeno, y radical hidroxilo son metabolitos fisiológicos que son formados en el organismo como una inevitable consecuencia de la respiración aeróbica. Bajo condiciones normales, las ROS son neutralizadas por enzimas antioxidantes como la catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, o por factores no enzimáticos como vitamina E, vitamina C y beta-caroteno. Sin embargo, las ROS son especies reactivas y reaccionan rápidamente con sustancias vitales en el organismo humano incluido el ADN, membranas de lípidos y proteínas, como resultado las ROS están involucradas en muchos desórdenes de la salud como diabetes mellitus, cáncer, artritis y enfermedades inflamatorias¹. Los antioxidantes son considerados compuestos clave en la lucha contra varias enfermedades (como cáncer, inflamación crónica, aterosclerosis, desórdenes cardiovasculares) y el proceso de envejecimiento².

El interés por el estudio de sustancias con actividad antioxidante en algas surgió en el Japón, en la búsqueda de nuevos aditivos para alimentos, en sustitución de antioxidantes sintéticos como hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT), los cuales mostraban efectos cancerígenos, alteraciones enzimáticas y lipídicas en animales³. De ahí la necesidad de contar con compuestos antioxidantes naturales, siendo las algas una fuente natural de compuestos con actividad antioxidante.

Las algas rojas, a diferencia de las algas pardas y verdes, son más conocidas por producir metabolitos halogenados, particularmente bromados y yodados⁴. Estudios previos indican que los bromofenoles son los principales componentes en algas de la Familia Rhodomelaceae. Dentro de la familia Rhodomelaceae se encuentra el género *Polysiphonia*, de la orden Ceramiales, varias especies de este género han sido reportadas conteniendo compuestos bromofenólicos con actividad antioxidante⁵.

Publicaciones científicas reportan que extractos de *Polysiphonia urceolata* presentan actividad antioxidante debido a la presencia de compuestos polifenólicos bromados (Figura 1)⁵.

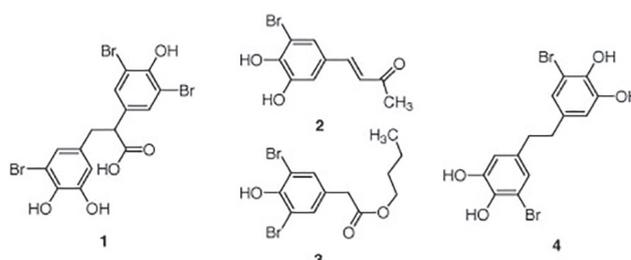


Figura 1. Bromofenoles (estructuras 1 a 4) aislados del alga *Polysiphonia urceolata*, con actividad antioxidante

El alga *Polysiphonia paniculata* Montagne, alga roja de la familia Rhodomelaceae, ha sido estudiada en Perú, demostrando que presenta actividad antibacteriana⁶. No se ha reportado estudios que mencionen los metabolitos secundarios que contiene, ni literatura que estudie su actividad antioxidante, por consiguiente, esta investigación tuvo como objetivos identificar la presencia de compuestos bromofenólicos, así como evaluar y comparar la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos etéreo, diclorometánico y etanólico obtenidos del alga *Polysiphonia paniculata* Montagne, mediante el método DPPH (1,1-difenil- β -picrilhidrazilo), de captura de radicales.

MATERIAL Y MÉTODOS

METODOLOGÍA

Tipo y Diseño de Investigación

El presente estudio es de tipo experimental, dado que se ha valorado el efecto de la variable independiente: compuestos fenólicos del alga roja *Polysiphonia paniculata* M.

Análisis e interpretación de la información

En los análisis cada dato se obtuvo por al menos 3 medidas independientes.

Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) para evidenciar la actividad antioxidante.

La significancia se reporta con un nivel de confianza del 95%.

Colecta de muestras

Las algas se recolectaron en la Playa Barranco, distrito de Barranco, Región de Lima-Perú. La muestra algal fue limpiada manualmente para eliminar arena, epifitos y fauna acompañante, luego se lavó con agua potable y se enjuagó con agua destilada.

Posteriormente, las algas se secaron durante 24 horas bajo luz artificial a aproximadamente 25°C y finalmente durante 48 horas en estufa a 40 °C.

Las algas secas fueron molidas hasta obtener un polvo fino y se guardaron en un envase de vidrio herméticamente cerrado.

Clasificación Taxonómica

La identificación y clasificación taxonómica de la especie fue realizada por el biólogo Sr. Mario Benavente Palacios. Anexo I.

Preparación de los extractos

El proceso de extracción se realizó mediante maceración, dejando macerar 50 g de algas (secas y molidas) en 500 mL de solvente, los solventes a emplear fueron éter de petróleo, diclorometano y etanol 96° (los que se emplearon en orden creciente de polaridad). Se dejó reposar por 7 días con agitación eventual⁷.

Los extractos obtenidos fueron filtrados usando papel Whatman No. 1, los sobrenadantes fueron evaporados en un rotavapor y los extractos secos resultantes fueron conservados en frasco ámbar y refrigerados.

Identificación de Compuestos Bromofenólicos

Los compuestos bromofenólicos en los extractos de éter de petróleo, diclorometano y etanol fueron identificados mediante reacciones cromogénicas^{8,9}, cromatografía en capa fina, empleando como revelador una solución de tricloruro férrico al 1% en etanol, así como el análisis por espectroscopía Infrarroja^{5,10,11}. Equipo empleado: Espectrofotómetro infrarrojo por reflexión total atenuada Marca Shimadzu modelo IR-Tracer-100.

Determinación de la Actividad Antioxidante

Se utilizó el método de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo), de captación de radicales^{5,10}.

Procedimiento:

La actividad antioxidante de los extractos fue determinada por medio del ensayo 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). Donde 1.2mL de solución de muestra (400µg/mL, 200µg/mL, 150µg/mL, 100µg/mL y 50µg/mL) y vitamina C (2.4µg/mL, 2.0µg/mL, 1.6µg/mL, 1.2µg/mL y 0.8µg/mL) fueron mezclados con 2.4mL de solución DPPH al 0.2% en metanol. La mezcla se agitó y reposó a temperatura ambiente en la oscuridad por 30

minutos. La absorbancia fue leída a 517nm. El experimento fue repetido por triplicado para cada extracto de éter, diclorometano y etanol.

La actividad fue expresada en porcentaje de inhibición.

$$\% \text{de inhibición} = \left(1 - \left[\frac{\text{Abs MP} - \text{Abs B/M}}{\text{Abs DPPH}}\right]\right) \times 100\%$$

Equipo empleado Espectrofotómetro UV-VIS GENESIS 6.

RESULTADOS

Identificación de Compuestos Bromofenólicos

- Reacción Cromogénica: Luego de revelar los cromatogramas con la solución de cloruro férrico al 1%, se obtuvo mancha azul tenue con el extracto etéreo, manchas azul oscuro intensas con el extracto diclorometánico (identificación de compuestos fenólicos) y no se generó ninguna mancha con el extracto etanólico.

Espectroscopía infrarroja en el extracto diclorometánico

El espectro IR del extracto diclorometánico mostró una banda de absorción para hidroxilo (3327 cm⁻¹), anillos aromáticos (1546 cm⁻¹ y 1463 cm⁻¹) y una banda de absorción a 719 cm⁻¹ para enlace C-Br, tal como se muestra en las Figuras 2 y 3.

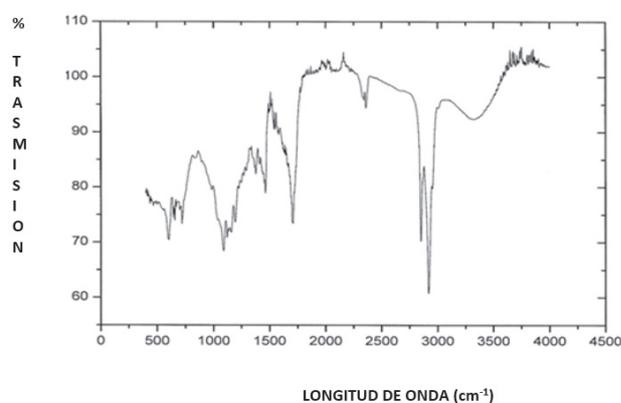


Figura 2. Espectro Infrarrojo del extracto diclorometánico de *P. paniculata* Montagne

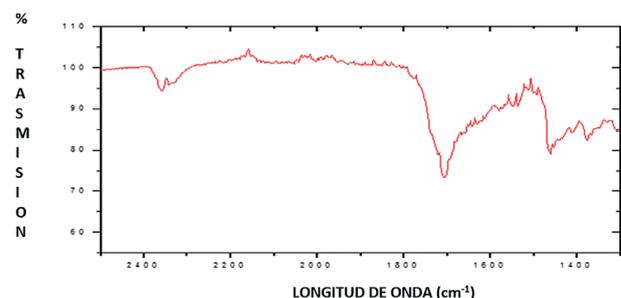


Figura 3. Espectro Infrarrojo del extracto diclorometánico de *P. paniculata* Montagne Rango 2500 a 1300 cm⁻¹

Tabla 1. Bandas observadas en el espectro IR de las Figuras 2 y 3

cm-1	Enlace	Grupo funcional
3327	O-H	alcoholes, fenoles
1708	C=O	grupo carbonilo
1546	C-C	grupos aromáticos
1463	C-C	grupos aromáticos
719	C-Br	halógeno
2500 a 1500		Huella de compuestos aromáticos

Actividad Antioxidante

Los resultados de la Capacidad Antioxidante se reportan en la Figura 4.

En ellos se aplicó el análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95%.

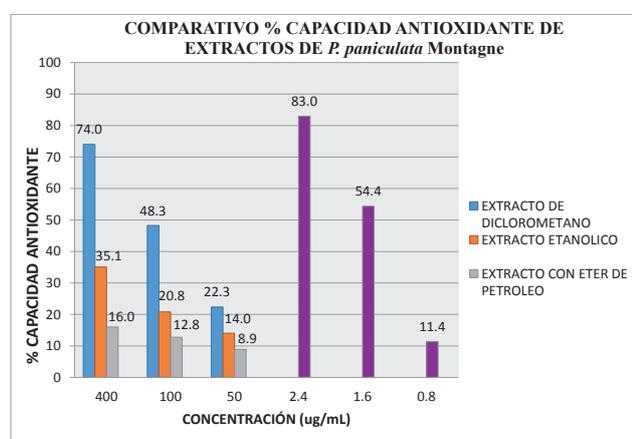


Figura 4. Comparación de la actividad antioxidante de los extractos obtenidos del alga *Polysiphonia paniculata* Montagne mediante el método DPPH (ANOVA $p < 0.05$)

DISCUSIÓN

El estudio por métodos cromogénicos y espectroscópicos (IR) identificó la presencia de compuestos bromofenólicos en el extracto diclorometánico. Las bandas características para grupos hidroxilo (3327 cm^{-1}), para grupos aromáticos (1546 cm^{-1} y $1463\text{-}1478 \text{ cm}^{-1}$) coinciden con los reportados por Li et al.⁵ y Liu et al.¹². La banda C-Br (en anillo aromático) a 719 cm^{-1} coincide con lo divulgado por Rajasulochana et al.¹³.

La actividad antioxidante, de los extractos etéreos, diclorometánicos y etanólicos, se evaluó mediante el ensayo de captación de radicales DPPH. El extracto diclorometánico presentó 74.0% de actividad antioxidante, mientras que los porcentajes de las actividades de los extractos etanólico y etéreo fueron 35.1% y 16.0% respectivamente. El extracto diclorometánico (400 µg/mL) presentó dos veces más capacidad antioxidante que el extracto etanólico y casi 5 veces más capacidad antioxidante que el extracto etéreo. El extracto diclorometánico (400 µg/mL) presentó una actividad antioxidante 9% menor que la Vitamina C (83% a 2.4 µg/mL). Mayores capacidades antioxidantes fueron reportadas por los investigadores Je et al.¹, Li et al.^{5,10,14}, quienes mediante el

método DPPH determinaron la actividad antioxidante de especies del género *Polysiphonia*. Je et al. estudiaron la actividad antioxidante del alga *Polysiphonia morrowii* (Costa de Corea), donde los extractos analizados (a 100 µg/mL) reportaron una capacidad antioxidante de 92% mientras que el estándar Butilhidroxitolueno (BHT) reportó una actividad de 88.3%. Así también Li et al.⁵ estudiaron la actividad antioxidante del alga *Polysiphonia urceolata* (Costa de China), establecieron que los bromofenoles de estructuras 1 a 4 (Figura 1), responsables de la actividad antioxidante presentaron fuerte actividad (CI_{50} : 9.67 a 21.90 µM) en comparación al BHT (CI_{50} : 83.84 µM). Finalmente, Li et al.¹⁴ determinaron que el compuesto bromofenólico Urceolatin, de *Polysiphonia urceolata*, es 10 veces más potente que el control positivo Hidroxitoluenbutilado.

Liu et al.¹⁵ manifestaron que se ha incrementado el número de compuestos aislados de las algas marinas, las que son una de las fuentes más ricas en productos naturales. Uno de estos compuestos son los bromofenoles, presentes en algas rojas, pardas y verdes, pero no todas las algas rojas presentan un alto contenido de bromofenoles, esto guarda relación con su capacidad antioxidante. Asimismo, Liu et al.¹⁵ afirmaron que de acuerdo a los estudios reportados sobre bromofenoles y su relación con la actividad antioxidante soporta la idea que el número de grupos hidroxilo en las moléculas juega un rol vital para esta actividad. Otro factor importante es la conjugación, por ejemplo una estructura tipo dihidrofenantreno tiene mayor conjugación que una estructura formada por dos anillos fenólicos enlazados por un grupo etilo, presentando las estructuras con más conjugación mejor actividad antioxidante que las menos conjugadas. De acuerdo a lo reportado por los investigadores, la brominación (el número de átomos de bromo en el compuesto fenólico) no es un factor determinante para la actividad antioxidante, en algunos casos su presencia incrementa ligeramente los valores de CI_{50} mientras que, comparando una estructura brominada con una similar menos brominada los valores de CI_{50} disminuyen ligeramente. Las afirmaciones de Liu corresponden con los porcentajes de actividad obtenidos de los extractos de *P. paniculata* Montagne, los compuestos fenólicos responsables de la actividad antioxidante presentan pocos grupos hidroxilo en su estructura, evidenciado por el alto porcentaje de tramitancia obtenido en el espectro Infrarrojo en la banda a 3327 cm^{-1} .

CONCLUSIONES

El estudio por métodos cromogénicos y espectroscópicos (IR) identificó la presencia de compuestos bromofenólicos en el extracto diclorometánico, mediante las bandas características para grupos hidroxilo (3327 cm^{-1}), para grupos aromáticos (1546 cm^{-1} y 1463 cm^{-1}) y para bromo a 719 cm^{-1} .

Se determinó la capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos en éter de petróleo, diclorometano y etanol 96° mediante el método DPPH.

La capacidad antioxidante *in vitro* del extracto diclorometánico a 400 µg/mL (74%) es mucho mayor que los extractos etanólico (35.15%) y etéreo (16.0%) respectivamente.

La actividad antioxidante fue mayor en el extracto diclorometánico debido a la presencia de compuestos fenólicos, que tiene ligera presencia en el extracto etéreo y está ausente en el extracto etanólico.

Mario J. Benavente Palacios
Biólogo – Botánico
C.B.P. N° 2716

DGFFS N° 14 (2009-2010)

CERTIFICACION BOTÁNICA

Se certifica que la muestra vegetal del alga roja “POLISIFONIA” proporcionada por la Q.F. **Belén Guadalupe, GONZALEZ GONZALEZ**, con matricula N° 09047067, alumna de la Maestría en Recursos Vegetales y Terapéuticos, de la UPG de la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM, ha sido estudiada, identificada y clasificada como ***Polysiphonia paniculata*** Montagne y según el sistema de clasificación de Guiry, M.D. & Guiry, G. M. (2010). AlgaeBase.se ubica en las siguientes categorías taxonómicas como sigue:

DIVISIÓN	RHODOPHYTA
CLASE	FLORIDEOPHYCEAE
SUBCLAS	RHODYMENIOPHYCIDAE
ORDEN	CERAMIALES
FAMILIA	RHODOMELACEAE
TRIBU	POLYSIPHONIEAE
GENERO	<i>Polysiphonia</i> Greville
ESPECIE	<i>Polysiphonia paniculata</i> Montagne
NOMBRE VULGAR O COMUN:	“POLISIFONIA”
DETERMINADO POR:	Mario J. Benavente Palacios

Se expide la presente certificación Botánica a solicitud de la interesada para los fines que estimen conveniente.

Lima, 25 de Agosto de 2010

.....
Mario J. Benavente Palacios
Biólogo - Botánico
C.B.P. N° 2716
DGFFS N° 14 (2009 - 10)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Je J, Ahn Ch, Oh M, Kang S. Antioxidant activity of a red seaweed *Polysiphonia morrowii* extract. *Food Science Biotechnology*. 2009; 18(1): 124-129.
2. Zubia M, Fabre M, Kerjean V, Deslandes E. Antioxidant and cytotoxic activities of some red algae (Rhodophyta) from Brittany coast (France). *Botánica Marina*. 2009; 52: 268-277.
3. Dutra F, Crespo R, Coelho M, Laneuville V. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. *Brazilian Journal Pharmacognosia*. 2007; 17(4): 631-639.
4. Oumaskour K, Boujaber N, Etahiri S, Assobhei O. Anti-inflammatory and antimicrobial activities of twenty-three marine red algae from the Coast of Sidi Bouzid (El Jadida-Morocco). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013; 5(3): 145-149.
5. Li K, Li X, Ji N, Wang B. Natural bromophenols from the marine red alga *Polysiphonia urceolata* (Rhodomelaceae): Structural elucidation and DPPH radical-scavenging activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2007; 15(21): 6627-6631.
6. Balta, M. Producción de compuestos antimicrobianos en algas marinas peruanas. En: *Enteromorpha intestinales* (Chlorophyta) y *Polysiphonia paniculata* (Rhodophyta). [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas; 1988.
7. Patra J, Patra A, Mahapatra N, Thatoi H, Das S, Sahu R, et al. Antimicrobial activity of organic solvent extracts of three marine macroalgae from Chilika Lake, Orissa, India. *Malaysian Journal of Microbiology*. 2009; 5(2):128-131.
8. Zohra S, Meriem B, Samira S, Muneer A. Phytochemical screening and identification of some compounds from *Mallow*. *Journal of Natural Product and Plant Resource*. 2012; 2(4): 512-516.
9. Iqbal E, Salim K, Lim L. Phytochemical screening, total phenolic and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darusaalam. *Journal of King Saud University-Science*. 2015; 27, 224-232.
10. Li K, Li X, Ji N, Wang B. Bromophenols from the marine red alga *Polysiphonia urceolata* with DPPH radical scavenging activity. *Journal of Natural Products*. 2008; 71:28-30.
11. McMurry J. *Química Orgánica*. 8a. ed. México: Cengage México Editores; 2012.
12. Liu Q, Qiao Q, Zhang T, Sun L, Wang M. The structure elucidation of a new bromophenol metabolite from *Polysiphonia urceolata* by experimental and DFT theoretical methods. *Journal of Molecular Structure*. 2009; 929: 1-5.
13. Rajasulochana P, Krishnamoorthy P, Dhanotharam R. Isolation, identification of bromophenol compound and antibacterial activity of *Kappaphycus* sp. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2012; 3(2): 173-186.
14. Li K, Li X, Ji N, Gloer J, Wang B. Urceolatin, a structurally unique bromophenol from *Polysiphonia urceolata*. *Organic Letters*. 2008; 10(7):1429-1432.
15. Liu M, Hansen P, Lin X. Bromophenols in marine algae and their bioactivities. *Marine Drugs*. 2011; 9: 1273-1292.