

Evaluación fitoquímica, antioxidante, antiinflamatoria y antiartrítica de un extracto hexánico de *Papaver somniferum* L.

Phytochemical, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Anti-Arthritic Evaluation of a Hexane Extract of *Papaver somniferum* L.

Manzo Godoy, M.A.¹ , Velasco Ramírez, S. F.^{1*} , Ramírez Anguiano, A. C.¹ ,
Velázquez López, J. M.¹ , Zamudio Ojeda, A.² , González Sandoval, C.E.³ 

¹ Laboratorio de Análisis Químico Cuantitativo, Departamento de Química, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara. Boulevard General Marcelino García Barragán 1421, Col. Olímpica, Guadalajara, Jalisco, 44430, México.

² Laboratorio de Nuevos Materiales, Departamento de Física, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara. Boulevard General Marcelino García Barragán 1421, Col. Olímpica, Guadalajara, Jalisco, 44430, México.

³ Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Farmacobiología, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara. Boulevard General Marcelino García Barragán 1421, Col. Olímpica, Guadalajara, Jalisco, 44430, México.



Please cite this article as/Como citar este artículo:

Manzo-Godoy, M.A., Velasco- Ramírez, S. F., Ramírez-Anguiano, A. C., Velázquez-López, J. M., Zamudio-Ojeda, A., González-Sandoval, C.E. (2025) Phytochemical, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Anti-Arthritic Evaluation of a Hexane Extract of *Papaver somniferum* L. *Revista Bio Ciencias*, 13, e1891. <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e1891>

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: February 26th 2025.

Accepted/Aceptado: September 26th 2025.

Available on line/Publicado: November 04th 2025.

RESUMEN

En este estudio se evaluaron las propiedades fitoquímicas, antioxidantes, antiinflamatorias y antiartríticas de un extracto hexánico de semillas de *Papaver somniferum* L. Se realizaron análisis fitoquímicos cualitativos y cuantitativos, incluyendo ensayos espectrofotométricos para determinar el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides, taninos y antocianinas. La actividad antioxidante se evaluó mediante los métodos DPPH, ABTS y FRAP, arrojando valores de 12.40 mg TE/g DW, 82.48 % de inhibición y 2.95 mg TE/g DW, respectivamente. Se aplicaron modelos in vitro para determinar la actividad antiinflamatoria (estabilización de membranas eritrocitarias) y antiartrítica (inhibición de la desnaturalización de proteínas), en los cuales se observó una inhibición superior al 80 %. El análisis FT-IR confirmó la presencia de grupos funcionales característicos de metabolitos lipofílicos. A pesar de las limitaciones del hexano como solvente para compuestos polares, los resultados sugieren que la fracción hexánica conserva bioactividad significativa atribuible a metabolitos secundarios lipofílicos. Estos hallazgos respaldan el potencial terapéutico de extractos no polares de *Papaver somniferum* L y motivan su estudio adicional mediante técnicas avanzadas de caracterización.

PALABRAS CLAVE: *Papaver somniferum* L., Extractos hexánicos, Fenoles totales, Antioxidante, Antiinflamatorio, Antiartrítico.

*Corresponding Author:

Sandra Fabiola Velasco-Ramírez. Departamento de Química. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara. Boulevard General Marcelino García Barragán 1421, Col. Olímpica, Guadalajara, Jalisco, 44430, México. Teléfono: 52 33 1378 5900. E-mail: sandra.vramirez@academicos.udg.mx

ABSTRACT

This study evaluated the phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-arthritic properties of a hexane extract from *Papaver somniferum* L. seeds. Qualitative and quantitative phytochemical analyses were performed, including spectrophotometric assays to determine the total phenolic, flavonoid, tannin, and anthocyanin content. Antioxidant activity was assessed using DPPH, ABTS, and FRAP methods, yielding values of 12.40 mg TE/g DW, 82.48 % inhibition, and 2.95 mg TE/g DW, respectively. *In vitro* models were applied to determine anti-inflammatory activity (erythrocyte membrane stabilization) and anti-arthritic activity (protein denaturation inhibition), with inhibition percentages above 80 %. FT-IR analysis confirmed the presence of functional groups characteristic of lipophilic metabolites. Despite the hexane limitations as a solvent for polar compounds, the results suggest that the hexane fraction retains significant bioactivity, likely due to lipophilic secondary metabolites. These findings support the therapeutic potential of non-polar extracts from *P. somniferum* and encourage further study using advanced characterization techniques.

KEY WORDS: *Papaver somniferum* L., hexane extracts, total phenols, antioxidant, anti-inflammatory, anti-arthritic.

Introducción

Papaver somniferum L., conocida comúnmente como adormidera, es una planta originaria de Asia occidental que ha sido utilizada tradicionalmente por su látex rico en alcaloides como la morfina, codeína y papaverina (Labanca *et al.*, 2018). No obstante, más allá de su uso narcótico, las semillas de esta especie han despertado interés científico por su contenido en lípidos insaturados, compuestos fenólicos y pigmentos naturales con potencial bioactivo (Shahidi & Ambigaipalan, 2015; Butnariu *et al.*, 2022).

Las semillas de *P. somniferum* son utilizadas legalmente en productos de panadería y repostería por su perfil nutricional y alta concentración de aceites (Paniagua-Zambrana *et al.*, 2020). En los últimos años, estudios fitoquímicos han revelado que las semillas contienen también flavonoides, antocianinas y ácidos fenólicos, los cuales poseen reconocida actividad antioxidante y antiinflamatoria (Ambriz-Pérez *et al.*, 2016; Ghasemzadeh *et al.*, 2011).

En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo caracterizar químicamente el extracto hexánico de las semillas de *P. somniferum* L., evaluando cuantitativamente su contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante y antiinflamatoria. Aunque los compuestos fenólicos son típicamente solubles en solventes polares, diversos estudios han mostrado que

fracciones lipofílicas pueden contener compuestos fenólicos apolares o fenólicos acilados con alta bioactividad (Arzola-Rodríguez *et al.*, 2022). Por lo tanto, se exploró la actividad de esta fracción apolar para ampliar el conocimiento sobre las potenciales aplicaciones terapéuticas y funcionales de las semillas de adormidera.

Material y Métodos

Obtención del material vegetal

Las semillas de *Papaver somniferum* L. utilizadas en este estudio fueron adquiridas en el portal Hierbas Orgánicas México, proveedor especializado en ingredientes para uso alimentario y herbolario. El producto comercial especifica que las semillas están destinadas exclusivamente para fines culinarios, tales como repostería e infusiones, y no son aptas para siembra, lo cual fue considerado para fines éticos y legales de este estudio. La información del proveedor indica que el material proviene de cultivos en Holanda, siendo la parte utilizada la semilla seca entera.

Para asegurar la trazabilidad y autenticidad botánica, se realizó una inspección morfológica y fotográfica del lote utilizado. Asimismo, se depositó un espécimen de referencia en el Herbario IBUG de la Universidad de Guadalajara.

Preparación de extractos

El material vegetal (300 g de semillas de *Papaver somniferum* L.) fue sometido a un proceso de maceración estática con 300 mL de hexano en frascos de vidrio ámbar, durante 7 días, a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) y en ausencia de luz, con el fin de preservar la estabilidad de los compuestos sensibles a la oxidación. Finalizado este periodo, la mezcla fue filtrada utilizando papel Whatman N.º 1 para separar el extracto del residuo vegetal. El filtrado se concentró a presión reducida mediante un rotaevaporador (Büchi R-210, Suiza) a 40 °C, obteniéndose un extracto seco.

Posteriormente, el extracto fue resuspendido en etanol absoluto (≥ 99.9 %) o en una mezcla etanol: agua (80:20 v/v), según el tipo de análisis a realizar, con el objetivo de garantizar su miscibilidad en medios acuosos, especialmente en los ensayos de actividad antioxidante. Esta estrategia se fundamenta en evidencia previa que recomienda el uso de solventes polares compatibles para facilitar la interacción del extracto con radicales libres y reactivos cromogénicos en fase acuosa (Ghasemzadeh *et al.*, 2011). Las soluciones preparadas fueron almacenadas en tubos de vidrio ámbar a 4 °C hasta su uso experimental.

Todos los ensayos se realizaron por triplicado, utilizando controles positivos específicos: ácido gálico (fenoles totales), quercetina (flavonoides), catequina (taninos) y Trolox (capacidad antioxidante). Se incluyeron también blancos de reactivo para cada prueba. Las lecturas espectrofotométricas se llevaron a cabo en un equipo UV-Visible modelo Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer Thermo Scientific™ (EUA).

Análisis fitoquímico

El análisis fitoquímico cualitativo se realizó con base en la metodología de Colina Ramos, (2016), con algunas modificaciones, con el objetivo de detectar preliminarmente la presencia de metabolitos secundarios en el extracto hexánico de *Papaver somniferum* L. Se evaluaron los siguientes grupos de compuestos bioactivos: fenoles, flavonoides, taninos, antocianinas, alcaloides, saponinas, triterpenos y esteroides.

Determinación de saponinas

- **Prueba de espuma**

El extracto fue agitado enérgicamente durante 40 segundos y se evaluó la persistencia de la espuma generada durante un periodo mínimo de 3 minutos. La prueba se realizó a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

Triterpenos y esteroides

- **Reactivo de Salkowski**

Se colocaron 3 gotas del extracto en un tubo de ensayo, a las que se añadieron 4 gotas de cloroformo, seguidas de 4 gotas de ácido sulfúrico concentrado y, finalmente, 4 gotas de anhídrido acético. La mezcla se dejó en reposo durante un minuto, tras lo cual se agitó suavemente para observar posibles cambios de coloración. El procedimiento se llevó a cabo a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

- **Variante A del reactivo de Salkowski**

A 3 gotas del extracto se le añadieron secuencialmente 5 gotas de cloroformo, 5 gotas de anhídrido acético y, por último, 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado, incorporadas lentamente por las paredes del tubo. La mezcla se dejó en reposo durante 4 minutos dentro de una campana de extracción, transcurrido ese tiempo se evaluaron los cambios de color. La prueba se realizó a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

- **Reactivo de Liebermann-Burchard**

Se mezclaron 3 gotas del extracto con 5 gotas de ácido acético, 5 gotas de anhídrido acético y 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado, agregadas lentamente por las paredes del tubo. Tras un reposo de 4 minutos, se observó el desarrollo de color. Todas las reacciones se efectuaron a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

Determinación de flavonoides

- **Reactivo de hidróxido de sodio (NaOH al 20 %)**

A 3 gotas del extracto se le añadieron 5 gotas de una solución de NaOH al 20 %, evaluando inmediatamente la aparición de un cambio de coloración. El ensayo se desarrolló a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

- **Ensayo de Shinoda**

Se mezclaron 3 gotas del extracto con 0.01 g de cloruro de magnesio, seguidas de 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. La mezcla se dejó en reposo durante 5 minutos en campana de extracción y posteriormente se registraron los cambios de color. La prueba se llevó a cabo a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

Determinación de taninos

- **Reactivo de cloruro férrico**

Se combinaron 3 gotas del extracto con 2 gotas de una solución de cloruro férrico al 10 % p/v, observando inmediatamente el cambio de coloración. El ensayo se realizó a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

Determinación de compuestos fenólicos

- **Reactivo de dicromato de potasio**

A 3 gotas del extracto se le añadieron 5 gotas de una solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) al 10 % p/v. Se dejó reposar durante 1 minuto y posteriormente se observó la aparición de cambios de coloración. La prueba se efectuó a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

Determinación de antocianinas y betalaínas

- **Adición de hidróxido de amonio**

Se mezclaron 5 gotas de hidróxido de amonio con 3 gotas del extracto. La reacción se dejó reposar durante 2 minutos en campana de extracción y se evaluó el cambio de coloración. El procedimiento se realizó a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

Determinación de alcaloides

- **Reactivo de Mayer**

El reactivo se preparó al momento disolviendo 0.2040 g de cloruro mercuríco en 9 mL de agua y 0.7500 g de yoduro de potasio en 6 mL de agua. Posteriormente, se mezclaron 3 gotas del extracto con 7 gotas de HCl al 10 %, y luego se añadieron 5 gotas del reactivo de Mayer. Se evaluó la presencia de cambio de coloración a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

- **Reactivo de Wagner**

Para su preparación, se disolvieron 0.1905 g de yodo recién sublimado y 0.3000 g de yoduro de potasio en 15 mL de agua bidestilada. En la prueba, se agregaron 3 gotas del extracto a 3 gotas de HCl al 10 %, seguido de 5 gotas del reactivo de Wagner. El cambio de coloración se observó a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

- **Reactivo de Dragendorff**

Se disolvieron 1.20 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 3 mL de ácido nítrico concentrado y 4.0800 g de yoduro de potasio en 7.5 mL de agua bidestilada. Ambas soluciones fueron mezcladas y completadas a 15 mL con agua bidestilada. La prueba consistió en mezclar 3 gotas del extracto con 3 gotas de HCl al 10 % y 6 gotas del reactivo de Dragendorff. Se evaluó el cambio de coloración a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

Determinación de azúcares totales

- **Prueba de Molisch**

El reactivo de Molisch fue preparado disolviendo 2.25 g de α -naftol en 15 mL de etanol. Para la prueba, se mezclaron 3 gotas del extracto con 3 gotas del reactivo, y posteriormente se añadieron lentamente 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado por las paredes del tubo dentro de una campana de extracción. El cambio de color fue inmediato. La prueba se realizó a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

Determinación de azúcares reductores

- **Prueba de Fehling**

El reactivo de Fehling se preparó en dos soluciones: la solución A consistió en 0.5190 g de sulfato de cobre y 0.0075 mL de ácido sulfúrico, llevados a un volumen de 7.5 mL; la solución B incluyó 2.5950 g de tartrato de sodio y potasio y 0.7500 g de NaOH, también llevados a 7.5 mL. Ambas soluciones se combinaron antes de su uso. Para la prueba, se mezclaron 3 gotas del extracto con 5 gotas de ácido sulfúrico al 50 % y se calentaron a baño María a 90 ± 2 °C durante 10 minutos. Luego se dejó enfriar a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) y se neutralizó con NaOH al 10 %. Finalmente, se añadieron 5 gotas del reactivo de Fehling, se agitó ligeramente y se recalentó en baño María a 90 ± 2 °C por otros 10 minutos, observándose el cambio resultante.

- **Prueba de Benedict**

El reactivo de Benedict se elaboró disolviendo 2.5950 g de citrato de sodio y 1.5000 g de carbonato de sodio anhidro en 12.75 mL de agua. Adicionalmente, se preparó una solución con 0.2595 g de sulfato de cobre pentahidratado disuelto en 1.5 mL de agua destilada. Ambas soluciones se combinaron y aforaron a 15 mL. Para el análisis, se mezclaron 3 gotas del extracto con 5 gotas de ácido sulfúrico al 50 %, calentándose a baño María (90 ± 2 °C) durante 10 minutos. Luego se dejó enfriar, se neutralizó con NaOH al 10 % y se añadieron 5 gotas del reactivo de Benedict. Se agitó y se volvió a calentar a baño María a 90 ± 2 °C durante 10 minutos, registrando el cambio observado.

Las determinaciones se realizaron en triplicado para cada prueba, utilizando controles positivos cuando fue posible, y se registraron los resultados cualitativos según la intensidad de la respuesta (ausente, débil, moderada o intensa).

Cuantificación espectrofotométrica

- **Cuantificación de fenoles totales**

La determinación del contenido de compuestos fenólicos totales se realizó por espectrofotometría UV-Visible, basada en la reacción redox del reactivo de Folin-Ciocalteu, siguiendo el método de Lillo *et al.* (2016) con algunas modificaciones. Se tomaron 100 μ L del extracto hexánico previamente rediluido en etanol: agua (80:20 v/v), a los que se agregaron 2 mL de agua destilada, 250 μ L de reactivo Folin-Ciocalteu y 1 mL de Na_2CO_3 al 10 % p/v. La mezcla se completó a 5 mL con agua destilada y se dejó incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para eliminar residuos no solubilizados, y se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Visible modelo Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer Thermo Scientific™ (EUA). Se empleó ácido gálico (0–1000 mg/L) como patrón para la curva de calibración. Los resultados se expresaron en $\text{mg GAE} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$.

- **Cuantificación de flavonoides totales**

El contenido total de flavonoides se cuantificó mediante el método colorimétrico basado en la formación de complejos con cloruro de aluminio (AlCl_3), descrito por Cimpoiu *et al.* (2011), con modificaciones. A 100 μ L del extracto resuspendido en una mezcla etanol: agua (80:20 v/v) se añadieron 100 μ L de AlCl_3 al 5 % (preparado en etanol) y 100 μ L de acetato de sodio 1 M. La mezcla se llevó a un volumen final de 5 mL con etanol absoluto y se dejó incubar 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. La absorbancia se midió a 425 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible modelo Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer Thermo Scientific™ (EUA).

Se elaboró una curva de calibración utilizando quercetina como estándar (0–1000 $\mu\text{g/mL}$),

y los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina por gramo de materia seca (mg QE·g⁻¹ DW). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado, y las soluciones se filtraron con membrana PVDF 0.45 µm antes de la lectura espectrofotométrica.

Aunque los flavonoides son compuestos predominantemente polares, algunos subgrupos como flavanonas metiladas, agliconas lipofílicas o flavonoides glicosilados con cadenas no polares pueden presentar cierta solubilidad en extractantes apolares. Sin embargo, se reconoce que el uso de hexano como disolvente primario puede limitar la representatividad total del perfil flavonoide de la muestra. Por esta razón, el extracto seco fue reconstituido en una fase hidroalcohólica compatible con el ensayo de AlCl₃, lo cual permitió evaluar de forma indirecta la posible presencia de flavonoides parcialmente solubles o asociados a otras moléculas no polares.

Este análisis se plantea como una evaluación exploratoria, y se sugiere que estudios posteriores complementen esta evaluación utilizando fracciones extraídas con disolventes polares para asegurar una recuperación más amplia de estos compuestos bioactivos.

- **Cuantificación de ácidos fenólicos**

Se siguió el procedimiento descrito por Lillo *et al.* (2016) con ajustes menores. Se tomaron 100 µL del extracto hexánico y se hicieron diluciones sucesivas en etanol: agua (80:20) para asegurar la miscibilidad. A cada alícuota se agregaron 1 mL de HCl 0.5 M, 1 mL del reactivo de Arnow, y 1 mL de NaOH 1 M, en ese orden, y se ajustó el volumen a 5 mL con agua destilada. La mezcla se incubó durante 30 minutos en ausencia de luz, y la absorbancia se midió a 520 nm en un utilizando un espectrofotómetro UV-Visible modelo Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer Thermo Scientific™ (EUA). Se realizó una curva de calibración con ácido cafeico (0–1000 mg/L) y los resultados se expresaron como mg CAE·g⁻¹ DW (equivalentes de ácido cafeico por gramo de materia seca).

- **Cuantificación de proantocianidinas**

Se siguió el protocolo de Lillo *et al.* (2016), con adecuaciones. A 200 µL del extracto se le agregaron 1200 µL de vainillina al 4 % p/v en butanol y 600 µL de HCl concentrado. La mezcla se mantuvo en oscuridad durante 30 minutos y la absorbancia se leyó a 500 nm. Se empleó una curva de calibración con (+)-catequina (0–1000 mg/L), y los resultados se expresaron como mg CE·g⁻¹ DW. El ensayo fue realizado en triplicado.

- **Cuantificación de antocianinas.**

Se empleó el método diferencial de pH modificado de Lillo *et al.* (2016). Se prepararon tampones pH 1 (KCl 0.1 M) y pH 4.5 (acetato de sodio y ácido acético 0.1 M). A cuatro muestras de 100 µL de extracto se les adicionaron 900 µL del tampón correspondiente. Se midió la absorbancia a 520 y 700 nm. La concentración se calculó mediante la ecuación 1:

$$\text{Ecuación 1: antocininas totales} = \frac{A \times PM \times 1000}{\epsilon \times l} \times FD$$

Donde:

$$A = (\text{Abs}_{520} - \text{Abs}_{700})_{\text{pH } 1} - (\text{Abs}_{520} - \text{Abs}_{700})_{\text{pH } 4.5},$$

PM = Peso molecular de cianidina-3-glucósido (449.2 g/mol),

FD = Factor de dilución,

l = Longitud de paso de celda en cm,

ϵ = Coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido (26900 L cm⁻¹ mg⁻¹),

1000 = Factor de conversión de g a mg.

La concentración de antocianinas en el extracto se expresa en (mg C3G·g⁻¹ DW) (mg equivalentes de cianidina-3-glucósido por gramo de materia seca).

• **Cuantificación de taninos**

Se utilizó el método de precipitación con seroalbúmina de Ricco *et al.* (2011). A 1 mL de extracto se le añadió 1 mL de solución de BSA (NaCl 0.17 M, acetato sódico 0.2 M, pH 5.0, 1 mg/mL de fracción V). Tras 15 minutos a temperatura ambiente, se extrajeron 50 µL del sobrenadante para determinar fenoles totales (como taninos precipitados) usando el método de Folin-Ciocalteu. Aunque este método se realizó con extracto hexánico, es importante señalar que los taninos son compuestos polares, escasamente solubles en hexano, lo cual podría conllevar una subestimación. Esta limitación se reconoce, y se sugiere utilizar fracciones en solventes polares para futuras aplicaciones. El análisis se realizó por triplicado.

Evaluación de actividad antioxidante

• **Evaluación de actividad antioxidante por el método de capacidad de captación del radical ABTS^{•+}.**

La capacidad antioxidante del extracto hexánico de *Papaver somniferum* L. se determinó de acuerdo con el método descrito por Re *et al.* (1999), con algunas modificaciones.

Para generar el radical ABTS^{•+}, se prepararon 25 mL de solución de ABTS (7 mM) y se añadieron 12.8 mg de persulfato de amonio (2.45 mM), dejándose en reposo a temperatura ambiente y en oscuridad durante treinta minutos en constante agitación. Posteriormente, esta solución madre se diluyó con etanol absoluto hasta ajustar su absorbancia a 0.700 ± 0.002 a una longitud de onda de 750 nm. Aunque el protocolo original establece la lectura a 734 nm, se

realizó un barrido espectrofotométrico en el rango de longitudes de onda y se determinó que este extracto hexánico presenta su pico máximo de absorción a 750nm; por lo tanto, esta fue la longitud de onda seleccionada para las lecturas de esta prueba.

Para evaluar la actividad antioxidante del extracto hexánico, éste fue previamente resuspendido en etanol absoluto con el fin de asegurar su compatibilidad con el sistema de reacción y permitir la adecuada interacción con el radical ABTS^{•+}. Este paso fue necesario dado que la fase de reacción del ensayo es hidroalcohólica y no miscible directamente con solventes apolares como el hexano.

Asimismo, se preparó una solución patrón de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) a 800 µM, disolviendo 2 mg del compuesto en 10 mL de etanol. A partir de esta solución madre, se generó una curva de calibración con concentraciones de 0 a 400 µM.

Los resultados se expresaron en µmol equivalentes de Trolox por gramo de materia seca (µmol TE g⁻¹ MS).

Se reconoce que el ensayo de ABTS^{•+} es más adecuado para extractos obtenidos con disolventes polares, ya que los antioxidantes con mayor capacidad captadora de radicales suelen presentar características hidrofílicas. En este estudio, la evaluación se consideró exploratoria para detectar posibles compuestos no polares con capacidad antioxidante en la fracción hexánica.

La siguiente ecuación 2 fue utilizada para determinar el porcentaje de inhibición de captación del radical ABTS^{•+}.

$$\text{Ecuación 2: \% Inhibición} = \frac{Abs_{ABTSi} - Abs_{ABTS^{•+} \text{ muestra}}}{Abs_{ABTSi}} \times 100$$

Donde:

$Abs_{ABTS^{•+}i}$ = Es la absorbancia de la solución del radical ABTS^{•+},

$Abs_{muestra}$ = Es la absorbancia debida a los radicales remanentes que quedan luego de llevarse a cabo la reacción de reducción, cuando la reacción ha alcanzado el estado estacionario Salazar *et al* (2018).

• **Ensayo para medir la capacidad de captación del radical DPPH[•] (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)**

La metodología empleada se basó en el procedimiento descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), con modificaciones. Para preparar 100 mL de solución de DPPH[•], se pesaron 7.1 mg del reactivo y se aforó con metanol al 80 % para obtener una solución con una concentración final de 180 µM.

Para la curva estándar, se disolvieron 4 mg de Trolox en 10 mL de metanol al 80 %, obteniendo una solución madre de 1600 μM . A partir de ésta, se prepararon diluciones en el rango de 0 a 1280 μM .

Posteriormente, se añadieron 20 μL de muestra en solución en una microplaca de 96 pocillos y se agregaron 260 μL de la solución de DPPH $\cdot$. La mezcla se agitó suavemente y se incubó a temperatura ambiente en oscuridad durante 30 minutos. La absorbancia se midió a 510 nm utilizando un lector de microplacas modelo Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer Thermo Scientific™ (EUA).

Aunque la longitud de onda estándar para la medición del radical DPPH $\cdot$ es 517 nm, en este estudio se utilizó 510 nm debido a las especificaciones técnicas del lector de microplacas, el cual no cuenta con filtro o monocromador en 517 nm, pero sí en 510 nm, como ha sido reportado en estudios similares (Gulcin & Alwasel, 2023; Kedare, 2011). Diversos trabajos han señalado que esta ligera variación no afecta significativamente la sensibilidad del método, siempre y cuando se mantenga la consistencia en la longitud de onda para todas las mediciones experimentales y los controles.

Los resultados se expresaron como % de inhibición del radical DPPH $\cdot$ y se calculó la concentración efectiva 50 (IC_{50}) mediante análisis no lineal de regresión sigmoidea, con ayuda del software GraphPad Prism® versión 9.0.

$$\text{Ecuación 3: \% Inhibición} = \frac{\text{Abs}_{\text{DPPH}\cdot\text{i}} - \text{Abs}_{\text{DPPH}\cdot\text{muestra}}}{\text{Abs}_{\text{DPPH}\cdot\text{i}}} \times 100$$

Donde:

$\text{Abs}_{\text{DPPH}\cdot\text{i}}$ = Es la absorbancia de la solución del radical DPPH $\cdot$,

$\text{Abs}_{\text{muestra}}$ = Es la absorbancia debida a los radicales remanentes que quedan luego de llevarse a cabo la reacción de reducción, cuando la reacción ha alcanzado el estado estacionario.

• **Ensayo para medir el poder de reducción férrica del FRAP**

Otro método utilizado para evaluar la capacidad antioxidante del extracto fue el ensayo de poder reductor férrico (FRAP), de acuerdo con el procedimiento descrito por Benzie & Strain (1996), con algunas modificaciones propuestas por Salazar *et al.*, (2018).

Se prepararon 100 mL de ácido clorhídrico (HCl) 40 mM, agregando 123 μL de HCl concentrado (37 %) y aforando con agua destilada. Posteriormente, se preparó una solución de 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) a 10 mM disolviendo 78.08 mg del reactivo en HCl 40 mM y aforando a 25 mL. En paralelo, se preparó una solución de cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) a 20 mM disolviendo 135.18 mg del compuesto en 25 mL de agua destilada.

El buffer de acetato de sodio se preparó a una concentración de 0.3 M y se ajustó a pH 3.6 con HCl 40 mM, disolviendo 2.4612 g de CH_3COONa en agua destilada hasta completar 100 mL. Esta concentración es adecuada para mantener un pH estable durante la reacción redox del FRAP.

La solución FRAP se preparó diariamente mezclando 2.5 mL de TPTZ 10 mM, 2.5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM y 25 mL de buffer de acetato de sodio 0.3 M.

Para la curva estándar, se preparó una solución madre de Trolox a 1000 μM disolviendo 2.5 mg en una mezcla de buffer de acetato: etanol (50:50) y aforando a 10 mL. A partir de esta solución, se elaboró la curva de calibración en un rango de concentraciones de 0–400 μM .

La absorbancia se midió a 593 nm, y los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox por gramo de muestra seca ($\mu\text{mol TE/g MS}$).

Actividad antiinflamatoria

- **Evaluación de la actividad antiinflamatoria mediante la metodología de estabilización de la membrana del eritrocito**

La actividad antiinflamatoria se evaluó mediante la metodología descrita por López *et al.* (2018), con algunas modificaciones.

Para este ensayo, se emplearon 5 mL de sangre humana obtenidos de un donador sano, quien otorgó su consentimiento informado por escrito para el uso exclusivo de la muestra con fines de investigación. Dado que el protocolo no involucró procedimientos clínicos ni diagnósticos sobre el donador, y la muestra fue utilizada únicamente para evaluación *in vitro*, no se requirió aprobación de un comité de ética, de acuerdo con las normas institucionales aplicables. La muestra se obtuvo en un tubo con anticoagulante EDTA, para preservar la integridad de los eritrocitos. Posteriormente, se centrifugó a 3000 r.p.m. durante 10 minutos, obteniéndose un paquete globular (RBC, red blood cells), con el cual se preparó una suspensión al 10 % v/v en solución salina isotónica.

- **Hemólisis inducida con solución salina hipotónica.**

La mezcla de reacción consistió en 0.5 mL de la suspensión al 10 % de RBC, 1 mL de buffer de fosfato (PBS) pH 7.4, 1 mL de solución salina hipotónica (0.3 % p/v) y 1 mL del extracto a evaluar.

Como control negativo, se empleó una mezcla similar reemplazando el extracto por 1 mL de solución salina isotónica. Para el control farmacológico, se utilizó 1 mL de indometacina disuelta en solución salina isotónica a una concentración de 3.33 mg/mL.

Todos los tubos se incubaron a 37 °C durante 30 minutos y posteriormente se centrifugaron

a 3000 r.p.m. durante 20 minutos. La absorbancia del sobrenadante se midió por triplicado a 560 nm en un espectrofotómetro UV-VIS marca Thermo Scientific modelo Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer (EUA), para determinar el grado de hemólisis, como indicador de la estabilidad de la membrana eritrocitaria.

- **Hemólisis inducida con calor.**

Para esta prueba, se empleó la misma mezcla de reacción descrita anteriormente. A cada tubo se le adicionó 1 mL del extracto hexánico de *Papaver somniferum* L. en concentraciones de 100, 250 y 500 µg/mL. Previamente, el extracto fue resuspendido en etanol al 10 % v/v en agua, a fin de asegurar su adecuada miscibilidad con la fase acuosa del sistema.

Como control negativo se empleó únicamente la solución salina isotónica. El control farmacológico consistió en la adición de 1 mL de indometacina a una concentración de 3.33 mg/mL. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Las muestras se incubaron a 57 °C durante 30 minutos y, posteriormente, se sometieron a una centrifugación a 2500 r.p.m. durante 5 minutos.

Las lecturas de absorbancia se realizaron a 560 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis modelo Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer Thermo Scientific™ (EUA), para calcular la liberación de hemoglobina como indicador del grado de hemólisis.

Se utilizó la siguiente ecuación 4 para determinar el porcentaje de inhibición de la actividad antiinflamatoria.

$$\text{Ecuación 4: \% de estabilidad} = 100 - \left(\frac{\text{abs de la muestra} - \text{abs del control}}{\text{abs del control}} \times 100 \right)$$

- **Evaluación de la actividad antiartrítica por el método de la Seroalbúmina Bovina.**

Esta prueba inicio con la preparación de una solución de Seroalbúmina de suero bovino (BSA) al 0.5 %: se disolvieron 500 mg de BSA en 100 mL de agua destilada. Posterior se preparó una solución salina tamponada con fosfato a pH 6.3: se disolvieron 8 g de NaCl, 0.2 g de KCl, 1.44 g de Na₂HPO₄ y 0.24 g de KH₂PO₄ en 800 mL de agua destilada. El pH se ajustó a 6.3 con HCl 1N y se completó el volumen a 1 L con agua destilada.

Se mezclaron 0.05 mL del extracto hexánico resuspendido en etanol al 10 % v/v en agua destilada, y 0.05 mL de indometacina como fármaco de referencia a 3.33 mg/mL, con 0.45 mL de solución BSA al 0.5 %. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 20 minutos, y posteriormente se elevaron a 57 °C durante 3 minutos para inducir la desnaturalización proteica. Luego de enfriar, se adicionaron 2.50 mL del tampón fosfato a cada tubo.

La absorbancia se midió a 255 nm con un espectrofotómetro UV-Visible modelo Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer Thermo Scientific™ (EUA).

Se utilizó como control la solución con BSA sin extracto ni fármaco, la cual representó el 100 % de desnaturalización proteica.

Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de la desnaturalización de proteínas, comparando la absorbancia de cada muestra con la del control negativo según la fórmula:

$$\text{Ecuación 5: \%Inhibición} = \left(\frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \right) \times 100$$

Donde:

A_{control} : absorbancia del control,

A_{muestra} : absorbancia de la muestra.

• Evaluación de la actividad antiartrítica por el método de la Proteína de huevo.

El porcentaje de inhibición de la desnaturalización de proteínas se calculó utilizando la siguiente ecuación 6:

$$\text{Ecuación 6: \%Inhibición} = 100 \times \left[\frac{V_t}{V_c} - 1 \right]$$

Donde:

V_t : absorbancia de la muestra,

V_c absorbancia control.

La mezcla de reacción (5.00 mL) consistió en 0.20 mL de albúmina de huevo, 2.80 mL de solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 6.4) y 2.00 mL del extracto hexánico previamente resuspendido en una mezcla de etanol: agua (10:90, v/v), a fin de asegurar su compatibilidad con el medio acuoso.

Un volumen similar de agua bidestilada fue empleado como control. Las mezclas se incubaron a 37 ± 2 °C durante 15 minutos y posteriormente se calentaron a 70 °C durante 5 minutos para inducir la desnaturalización de la proteína.

Después de enfriar, se midió la absorbancia a 660 nm utilizando como blanco el vehículo correspondiente. Se utilizó indometacina a 3.33 mg/mL como fármaco de referencia, tratada bajo las mismas condiciones que los extractos.

Análisis por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

Con el fin de identificar los grupos funcionales presentes en el extracto hexánico de *Papaver somniferum* L., se realizó un análisis mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR). Para ello, se utilizó un espectrofotómetro FT-IR modelo Nicolet iS50 de THERMO SCIENTIFIC, equipado con accesorio de reflectancia total atenuada (ATR), operando en un rango espectral de 4000 a 500 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y un promedio de 30 escaneos por muestra.

El extracto se analizó directamente sin necesidad de preparación adicional, colocando una pequeña cantidad del mismo sobre el cristal del accesorio ATR. Los espectros obtenidos se interpretaron con base en las bandas características de los grupos funcionales, con el apoyo de bibliografía especializada.

Análisis Estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado independiente, y los resultados se expresaron como media $\pm$ desviación estándar (DE). Para determinar diferencias significativas entre los métodos de evaluación de capacidad antioxidante, se aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA de un solo factor), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Se consideró estadísticamente significativa una diferencia con valor de $p < 0.05$. El análisis se realizó utilizando el software GraphPad Prism versión 9.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE. UU.).

Resultados y Discusión

Posterior al proceso de maceración y concentración del extracto mediante rotaevaporación, se obtuvo un volumen residual de 25.00 mL de extracto concentrado, correspondiente a la fracción hexánica. Dicho volumen se utilizó para las distintas determinaciones experimentales. Cabe señalar que no se trató de extracto seco, ya que no se realizó un secado completo ni cuantificación gravimétrica, por lo que los resultados posteriores se expresan con base en concentraciones relativas del extracto en solución.

Los análisis fitoquímicos cualitativos realizados al extracto hexánico (Tabla 1) evidenciaron la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, taninos y compuestos fenólicos (Díaz et al., 2015; Lu et al., 2017). La detección de estas moléculas, tradicionalmente consideradas de naturaleza polar, podría explicarse por una resuspensión parcial del extracto hexánico en un vehículo hidroalcohólico polar previo a su análisis, o por la concentración de formas lipofílicas (o agliconas) que presentan afinidad con solventes apolares Díaz et al. (2015).

Adicionalmente, se observó una señal positiva en la prueba de azúcares, aunque esta no fue respaldada por un método cuantitativo ni reportada en la sección metodológica, por lo que debe interpretarse con cautela.

Respecto a las pruebas en las que no se detectaron ciertos metabolitos, esto no implica su ausencia total en el extracto, sino que podría deberse a limitaciones en las condiciones experimentales, tales como el pH, la polaridad del solvente, la sensibilidad de las pruebas colorimétricas o la concentración utilizada Lu *et al.* (2017).

El análisis fitoquímico cualitativo del extracto hexánico reveló una presencia destacada de compuestos fenólicos, como flavonas, taninos y antocianinas, con intensidades de reacción entre (+++) y (++++) , lo que sugiere un perfil metabólico complejo con potencial bioactivo (Tabla 1). Estos resultados son especialmente relevantes, ya que los compuestos mencionados suelen estar asociados con diversas propiedades farmacológicas y antioxidantes.

Si bien estos metabolitos son típicamente solubles en solventes polares, su detección en el extracto hexánico podría explicarse por la polaridad intermedia de ciertos compuestos presentes en las semillas, así como por una posible coextracción de trazas polares residuales durante el proceso de maceración. Estudios previos han demostrado que, aunque los extractos hexánicos tienden a mostrar un bajo contenido de polifenoles en comparación con solventes como etanol o metanol, algunos compuestos fenólicos menos polares pueden llegar a recuperarse en esta fracción (Ng *et al.*, 2020; Kulshreshtha & Ranawat, 2022).

Por otro lado, se observó que el extracto diluido permitió una mejor detección de metabolitos que su contraparte concentrada. Este comportamiento puede atribuirse a una menor interferencia de matriz en las muestras diluidas, lo que facilita la interacción específica entre los metabolitos y los reactivos cromogénicos, aumentando la sensibilidad de las pruebas cualitativas. Este fenómeno ha sido descrito previamente en ensayos fitoquímicos, donde la dilución adecuada del extracto mejora la visibilidad de las reacciones colorimétricas (Khoddami *et al.*, 2013).

Tabla 1. Resultados de análisis fitoquímico donde: (++++), muy abundante, (+++) abundante, (++) medianamente abundante, (+) poco abundante y (-) no se observa.

Metabolito	Prueba fitoquímica	Resultado
Saponinas	Prueba de espuma	+
	Salkowski	++
	Liebermann-Burchard	++
Flavonas	Shinoda	+++
Fenoles	Dicromato de potasio	+++
Taninos	Cloruro férrico	+++
Antocianinas	NaOH al 20 %	++++
Quinonas	NaOH al 5 %	+
Alcaloides	Bornträger	+
	Mayer	+
	Wagner	+
	Dragendorff	+
Azúcares	Molisch	+++
Azúcares reductores	Fehling	+++
	Benedict	+++

En cuanto a la detección de azúcares y azúcares reductores, si bien su presencia en un extracto hexánico es poco esperada debido a su naturaleza polar, no puede descartarse completamente la posibilidad de trazas o interferencias analíticas. Factores como una eliminación incompleta del solvente acuoso, o la interacción de otros compuestos no azucarados con los reactivos de Molisch, Fehling y Benedict, podrían haber generado resultados positivos. En este contexto, se recomienda realizar futuras evaluaciones utilizando fraccionamientos polares y controles negativos, a fin de confirmar la naturaleza de las señales observadas.

Finalmente, estos resultados respaldan la importancia de optimizar los procedimientos de extracción y análisis, especialmente al trabajar con matrices vegetales complejas. La implementación de técnicas espectrofotométricas cuantitativas como Folin-Ciocalteu para fenoles totales, cloruro de aluminio para flavonoides y Folin-Denis para taninos, contribuirá a validar y complementar los hallazgos obtenidos por métodos cualitativos. Además, se sugiere estandarizar el proceso de extracción, especificando claramente las fases utilizadas y su concentración, con el fin de garantizar la reproducibilidad y comparabilidad de los resultados.

Tabla 2. Resultado de cuantificación de metabolitos secundarios.

	Fenoles totales ^A	Flavonas y Flavonoles ^B	Ácidos fenólicos ^C	Proantocianidinas ^D	Antocianinas ^E	Taninos ^A
Extracto	0.3510 ± 0.05	0.2081 ± 0.011	0.1332 ± 0.010	0.0193 ± 0.013	2.1457 ± 0.005	0.0247 ± 0.004

^A mg GAE g⁻¹ DW; ^B mg EQ g⁻¹ DW; ^C mg CAE g⁻¹; ^D mg CE g⁻¹ DW; ^E mg C3G g⁻¹ DW. Los valores representan las medias y su desviación estándar.

Análisis comparativo de la actividad antioxidante mediante los ensayos ABTS^{•+}, DPPH[•] y FRAP

Resultados del ensayo ABTS^{•+}

El extracto directo alcanzó su mayor capacidad antioxidante a los 60 minutos de reacción, momento en el cual se registró el porcentaje máximo de inhibición. El valor obtenido para este ensayo fue de 82.48 % de inhibición.

Resultados del ensayo DPPH[•]

Se observó una actividad antioxidante significativa del extracto hexánico, alcanzando un 79 % de inhibición, estabilizándose a los 85 minutos de iniciada la reacción. Además, se cuantificó un contenido de 12.40 mg TE/g DW mediante equivalentes de Trolox.

Resultados del ensayo FRAP

El extracto presentó una capacidad reductora correspondiente a 2.95 mg TE/g DW, lo cual indica una actividad antioxidante moderada.

Los resultados obtenidos evidencian una actividad antioxidante significativa del extracto hexánico, tanto en los ensayos ABTS^{•+} como DPPH[•] y FRAP, a pesar de que este tipo de extracto generalmente se asocia con una menor presencia de metabolitos antioxidantes debido a su baja polaridad. El valor de inhibición del 79 % en el ensayo DPPH[•] y del 82.48 % en ABTS^{•+} indican la presencia de compuestos con capacidad donadora de electrones o protones, posiblemente compuestos fenólicos menos polares, carotenoides u otros metabolitos lipofílicos extraídos con hexano.

En el caso del ensayo FRAP, el valor obtenido de 2.95 mg TE/g DW es moderado en comparación con extractos obtenidos con disolventes más polares, lo cual puede deberse a la baja extracción de polifenoles fuertemente reductores en disolventes no polares. Sin embargo, la detección de actividad en este ensayo complementa los resultados previos y sugiere que el

extracto contiene al menos algunos compuestos capaces de reducir iones férricos, lo que refuerza su potencial antioxidante.

El análisis estadístico realizado mediante ANOVA de un solo factor reveló diferencias estadísticamente significativas en los valores de capacidad antioxidante del extracto hexánico de *Papaver somniferum* L. obtenidos con los métodos ABTS, DPPH y FRAP ($F = 316.77$; $p = 8.26 \times 10^{-7}$). Los valores medios observados fueron de 4.4965 ± 0.012 mg TE/g DW (ABTS), 12.4039 ± 0.011 mg TE/g DW (DPPH) y 2.9487 ± 0.80 mg TE/g DW (FRAP), lo que evidencia una variabilidad significativa atribuible a la metodología analítica empleada. La prueba de Tukey confirmó que al menos uno de los métodos (DPPH) se comporta de manera significativamente diferente frente a los otros, particularmente al mostrar una mayor capacidad antioxidante expresada en mg TE/g DW.

Asimismo, la cinética observada en los ensayos ABTS $\cdot^+$ y DPPH $\cdot$ mostró que la actividad antioxidante se estabiliza después de una hora, lo cual sugiere que la interacción entre los compuestos del extracto y los radicales libres ocurre de forma progresiva, probablemente por una liberación sostenida o por diferencias en la afinidad de los metabolitos hacia cada tipo de radical.

Estos hallazgos son consistentes con estudios como los de Ng *et al.* (2020) y Shah & Patel, (2021) quienes señalaron que, aunque los extractos hexánicos tienden a tener menor contenido de compuestos fenólicos totales en comparación con extractos metanólicos o acuosos, aún pueden mostrar una actividad antioxidante moderada o elevada dependiendo de la matriz vegetal y del tipo de compuestos presentes.

En conjunto, los resultados obtenidos evidencian que el extracto hexánico de *Papaver somniferum* L. contiene metabolitos con potencial actividad antioxidante, cuya detección está influida por la naturaleza química de los radicales empleados en cada método y la sensibilidad inherente a cada ensayo. La mayor respuesta observada en el ensayo DPPH sugiere la presencia de compuestos con alta capacidad donadora de electrones o hidrógenos, mientras que el método FRAP, que evalúa el poder reductor férrico, presentó menor sensibilidad frente a esta matriz lipofílica. Estas diferencias, respaldadas por un análisis estadístico significativo entre métodos ($p < 0.001$), subrayan la importancia de emplear metodologías complementarias para una caracterización más completa del potencial antioxidante. Se recomienda, además, complementar estos hallazgos con análisis cuantitativos específicos (como HPLC o Folin-Ciocalteu) que permitan identificar los compuestos bioactivos responsables de dicha actividad.

Tabla 3. Capacidad antioxidante y mg TE/g materia seca del extracto hexánico de *Papaver somniferum* L. frente a las diferentes metodologías.

Muestra	Resultado (mgTE g ⁻¹ materia seca)	% Inhibición
(ABTS ^{•+})	4.4965 ± 0.012	82.4756
(DPPH [•])	12.4039 ± 0.011	79.6251
(FRAP)	2.9487 ± 0.80	N/A

Resultados de la actividad antiinflamatoria y antiartrítica

Actividad antiinflamatoria

El extracto hexánico mostró una capacidad significativa para inhibir la hemólisis inducida, lo que refleja un efecto estabilizador de membranas. Se obtuvo un 82.21 % de inhibición en el método de solución hipotónica (HISH) y un 85.13 % en el método de hemólisis inducida por calor (HIC). Estos valores son comparables con el control farmacológico (indometacina a 5.33 mg/mL), que presentó un 95.15 % de inhibición. Aunque ligeramente inferiores, los porcentajes observados para el extracto sugieren una actividad antiinflamatoria relevante, considerando la naturaleza no polar del solvente utilizado para su obtención.

Actividad antiartrítica

En los modelos *in vitro* para evaluación de actividad antiartrítica, el extracto mostró un efecto inhibitorio del proceso de desnaturalización proteica. Se registró un 82.0 % de inhibición con el método de albúmina sérica bovina (BSA) y un 87.04 % con el método de albúmina de huevo (EA). Estos valores respaldan la capacidad del extracto para estabilizar proteínas frente a condiciones desnaturalizantes, mecanismo asociado a procesos inflamatorios y artríticos.

El análisis de varianza de una vía (ANOVA) aplicado a los datos de porcentaje de inhibición entre tratamientos reveló diferencias estadísticamente significativas ($F = 10,209.11$; $p = 5.28 \times 10^{-18}$). El análisis *post hoc* mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey confirmó que el extracto hexánico difiere significativamente del control positivo (indometacina a 3.33 mg/mL), aunque mantiene una inhibición dentro de un rango biológicamente relevante. Entre los modelos evaluados, el método de albúmina de huevo (EA) mostró el mayor porcentaje de inhibición, seguido por el modelo de hemólisis inducida por calor (HIH) y, en menor medida, el modelo de solución hipotónica (HSIH). Estas diferencias sugieren que la respuesta del extracto puede depender del mecanismo de desestabilización celular específico de cada modelo, siendo más efectivo en condiciones de desnaturalización proteica o térmica. En conjunto, los resultados estadísticos respaldan el potencial antiinflamatorio y antiartrítico del extracto hexánico, con variaciones atribuibles a la sensibilidad particular de cada modelo *in vitro*.

Los hallazgos en los ensayos antiinflamatorios y antiartríticos refuerzan el potencial del extracto hexánico como agente bioactivo. Aunque los valores de inhibición fueron ligeramente menores al del fármaco estándar, se encuentran dentro de un rango biológicamente relevante. Estos efectos podrían explicarse por la presencia de metabolitos secundarios lipofílicos, como alcaloides, terpenoides o flavonoides no polares. Investigaciones previas han reportado que extractos lipofílicos de ortiga mayor presentan efectos antiinflamatorios superiores a los extractos polares (Johnson *et al.*, 2013), y que extractos con diclorometano de verdolaga inhiben la COX y promueven la IL-10 (Ahmed *et al.*, 2022).

Además, se ha documentado que los compuestos naturales derivados de plantas y fuentes marinas, como alcaloides, terpenoides y flavonoides, pueden modular vías inflamatorias en macrófagos y otras células inmunes (Merecz-Sadowska *et al.*, 2020; Mohammed *et al.*, 2014; Saudagar & Saokar, 2019; Verma *et al.*, 2016). Talhouk *et al.* (2007) y Justo *et al.* (2015) han señalado también que el vehículo de administración puede influir en la eficacia observada, siendo el DMSO uno de los más eficientes para revelar actividad antiinflamatoria *in vitro*.

En conjunto, estos hallazgos sugieren que los metabolitos lipofílicos presentes en el extracto hexánico pueden ejercer un efecto estabilizador de membranas y proteínas estructurales, actuando como agentes antiinflamatorios a través de mecanismos de protección física o modulación molecular temprana. A pesar de la polaridad limitada del hexano, su capacidad para extraer compuestos bioactivos con efecto relevante justifica su uso exploratorio.

Se recomienda complementar estos hallazgos con estudios de caracterización fitoquímica por HPLC u otras técnicas avanzadas para identificar los compuestos responsables y evaluar su bioactividad *in vivo*.

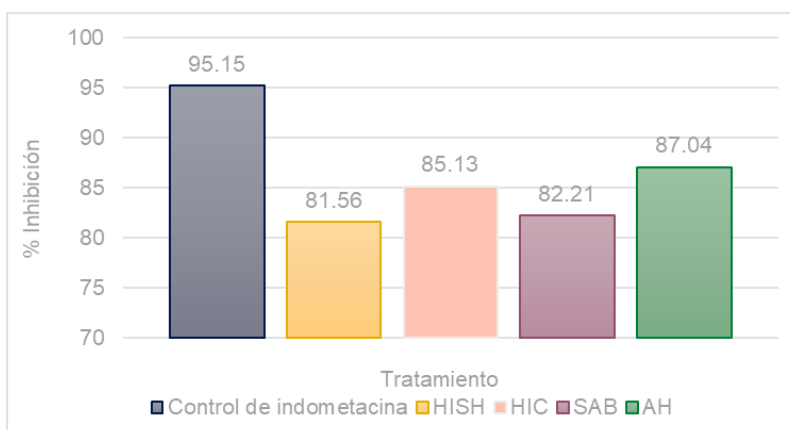


Figura 1. Gráfico de % de inhibición del extracto hexánico de *Papaver somniferum* L. contra un fármaco comercial (indometacina).

HSIH: Hemolisis Inducida por Solución Hipotónica, HIC: Hemolisis Inducida por Calor, BSA: Seroalbúmina Bovina, EA: Albumina de huevo.

Análisis por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR).

El extracto hexánico de la semilla de *Papaver somniferum* L. fue analizado mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) con el objetivo de identificar los principales grupos funcionales presentes. El espectro obtenido (Figura 2) revela varias bandas características que permiten inferir la composición química general del extracto.

Se observa una banda ancha en 3000 cm^{-1} , atribuida a las vibraciones de tensión del doble enlace C=C presentes en olefinas. Adicionalmente, se identifican bandas en 2930 cm^{-1} y 2850 cm^{-1} , asociadas a las vibraciones de estiramiento asimétrico y simétrico del grupo metileno ($-\text{CH}_2-$) típico de hidrocarburos alifáticos.

Una señal intensa en 1750 cm^{-1} sugiere la presencia de grupos éster, atribuible al estiramiento del enlace C=O. A su vez, una banda en 1680 cm^{-1} puede estar relacionada con enlaces C=C conjugados, o bien con compuestos aromáticos sustituidos, más que con olefinas aisladas, por lo que debe interpretarse con cautela.

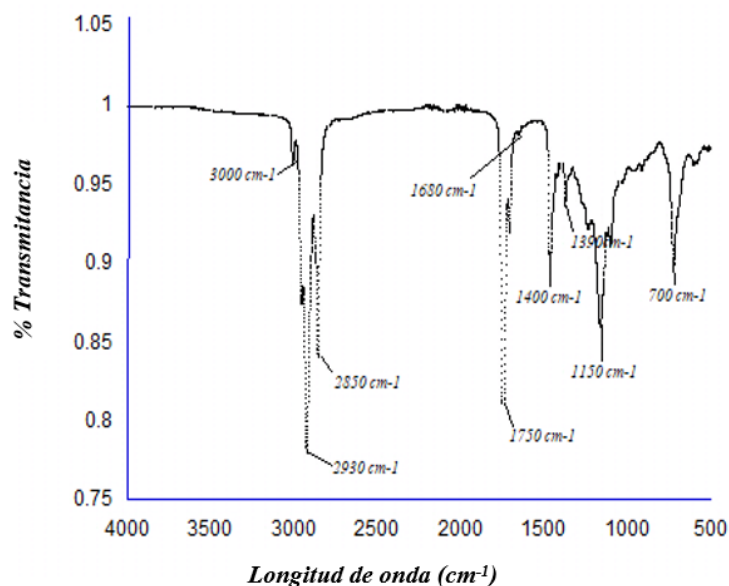


Figura 2. Espectro FT-IR del extracto hexánico de la semilla de *Papaver somniferum* L.

Las bandas observadas en 1400 cm^{-1} y 1390 cm^{-1} pueden asignarse a deformaciones del grupo metilo ($-\text{CH}_3$) o vibraciones del anillo de compuestos aromáticos, aunque no son diagnósticas por sí solas de la presencia de alquenos.

La señal a 1150 cm^{-1} corresponde al estiramiento del enlace C–O–C, característico de los grupos éster, lo cual refuerza la observación previa en 1750 cm^{-1} . Finalmente, la banda en 700 cm^{-1} podría estar asociada a vibraciones fuera del plano del anillo aromático, aunque su intensidad y forma sugieren precaución en su interpretación.

Las señales observadas en el espectro FT-IR son consistentes con la presencia de compuestos lipofílicos, como ácidos grasos, ésteres, hidrocarburos alifáticos y terpenos, que suelen ser extraídos con disolventes no polares como el hexano. La identificación de grupos ésteres es particularmente relevante, ya que estos compuestos pueden estar asociados con metabolitos secundarios de interés bioactivo, como ciertos triterpenos o ácidos grasos esterificados con potencial antioxidante y antiinflamatorio. La espectroscopía FT-IR ha sido empleada con éxito para detectar lípidos, ácidos grasos y terpenos en extractos obtenidos con disolventes no polares (Felix-Sagaste *et al.*, 2024; Shekhawat, Deora, & Sarswati, 2025). Las señales observadas en el espectro son consistentes con componentes lipofílicos activos, y corroboran la eficacia del hexano como solvente para aislar metabolitos antiinflamatorios de naturaleza no polar (Hari & Nair, 2018; Forfang *et al.*, 2017).

La caracterización por FT-IR proporciona un primer acercamiento cualitativo a la composición química del extracto, que debe complementarse con técnicas más específicas como cromatografía o espectrometría de masas para la identificación definitiva de los compuestos presentes.

Limitaciones del estudio

Aunque los hallazgos obtenidos aportan evidencia del potencial antioxidante, antiinflamatorio y antiartrítico del extracto hexánico de *Papaver somniferum* L., existen algunas limitaciones que deben considerarse. En primer lugar, los ensayos biológicos se realizaron con un número limitado de replicaciones, lo que restringe la posibilidad de aplicar análisis estadísticos robustos en algunos modelos, como en los ensayos antiinflamatorios. En segundo lugar, el estudio no incluyó una evaluación toxicológica del extracto, lo cual limita las inferencias sobre su seguridad y aplicabilidad terapéutica. Además, no se realizó una caracterización fitoquímica exhaustiva para identificar los metabolitos responsables de las actividades observadas, por lo que se requiere la aplicación de técnicas analíticas específicas (como HPLC, GC-MS o LC-MS/MS) en estudios futuros. Por último, si bien se observó una relación cualitativa entre el contenido fenólico y la bioactividad, no se efectuaron análisis estadísticos de correlación que permitan establecer una asociación cuantitativa entre estas variables. Estas limitaciones deben ser abordadas en investigaciones posteriores para consolidar el valor farmacológico del extracto.

Conclusión

Los resultados obtenidos evidencian que el extracto hexánico de semillas de *Papaver somniferum* L. posee una actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiartrítica destacable,

atribuible posiblemente a la presencia de compuestos lipofílicos como terpenoides, alcaloides y flavonoides no polares. La caracterización espectroscópica mediante FT-IR reforzó la identificación de estos metabolitos. Aunque el hexano no es el solvente óptimo para compuestos polares, el perfil fitoquímico y la actividad biológica observada indican que esta fracción puede contener principios activos relevantes con posible aplicación terapéutica. Los hallazgos sugieren la necesidad de complementar el análisis con técnicas como HPLC-MS o GC-MS, así como ensayos in vivo, para validar el potencial farmacológico de este extracto en contextos clínicos o nutraceuticos. Este estudio contribuye a la revalorización de extractos no polares en la investigación de productos naturales bioactivos.

Contribución de los autores

“Conceptualización del trabajo, V.R.S.F.; desarrollo de la metodología, M.G.M.A.; V.R.S.F., R.A.A.C., G.S.C.E.; análisis de resultados, V.R.S.F., R.A.A.C., G.S.C.E.; Manejo de datos, V.L.J.M., Z.O.A.; escritura y preparación del manuscrito, M.G.M.A.; V.R.S.F., R.A.A.C.; redacción, revisión y edición, V.R.S.F., R.A.A.C.

“Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.”

Financiamiento

Esta investigación no recibió financiamiento externo.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Ahmed, S. A., Shaker, S. E., & Shawky, H. (2022). Solvent polarity dictates the anti-inflammatory potency and mechanism of two purslane (*Portulaca oleracea*) seed extracts. *Journal of food biochemistry*, 46(10), e14281. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14281>
- Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Heredia, J. B. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food and Agriculture*. 2: 1131412. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1131412>
- Arzola-Rodríguez, S. I., Muñoz-Castellanos, L. N., López-Camarillo, C., & Salas, E. (2022). Phenolipids, Amphipilic Phenolic Antioxidants with Modified Properties and Their Spectrum of Applications in Development: A Review. *Biomolecules*, 12(12), 1897. <https://doi.org/10.3390/biom12121897>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure

- of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Butnariu, M., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Pentea, M., Sarac, I., Küşümler, A. S., ... & Cho, W. C. (2022). Papaver plants: current insights on phytochemical and nutritional composition along with biotechnological applications. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022(1), 2041769. <https://doi.org/10.1155/2022/2041769>
- Cimpoi, C., Cristea, V.-M., Hosu, A., Sandru, M., & Seserman, L. (2011). Antioxidant activity prediction and classification of some teas using artificial neural networks. *Food Chemistry*, 127(3), 1323–1328. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.091>
- Colina Ramos, A. C. (2016). Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “Muehlenbeckia hastulata (J.E.Sm) I.M. Johnston” de la zona de Yucay (Cusco) [Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Química e Ingeniería Química]. PDF. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/7121>
- Díaz, M., Cazaña Martínez, Y., Pérez Hernández, Y., Valdivia Ávila, A., Prieto Abreu, M., & Lugo Morales, Y. (2015). Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios en extractos de variedades e híbridos de *Morus alba* L. (morera). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000300010&lng=es&tlng=es
- Felix-Sagaste, K. G., García-Armenta, E., Freyre-Fonseca, V., Bastidas-Bastidas, P., Picos-Corrales, L. A., Cruz-Carrillo, M. A., & Amador-Espejo, G. G. (2024). Identification of compounds present in lipophilic extracts from *Brachystola magna* (Girard): substances with potential healing properties. *Natural product research*, 38(4), 639–643. <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2180637>
- Forfang, K., Zimmermann, B., Kosa, G., Kohler, A., & Shapaval, V. (2017). FTIR Spectroscopy for Evaluation and Monitoring of Lipid Extraction Efficiency for Oleaginous Fungi. *PloS one*, 12(1), e0170611. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170611>
- García-Granados, R.U., Cruz-Sosa, F., Alarcón-Aguilar, F.J., Nieto-Trujillo, A., & Gallegos-Martínez, M.E.. (2019). Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos acuosos de *Thalassia testudinum* Banks ex Köning et Sims de la localidad de Champotón, Campeche, México, durante el ciclo anual 2016-2017. *Polibotánica*, (48), 151-168. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.48.12>
- Ghasemzadeh, A., et al. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human health. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93(Pt A), 1448–1459. https://www.researchgate.net/publication/266585165_Flavonoids_and_phenolic_acids_Role_and_biochemical_activity_in_plants_and_human#:~:text=Phenolic%20acids%20and%20flavonoids%20also,The%20flavonoid%20biosynthetic%20pathway.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Hari, N., & Nair, V. P. (2018). FTIR spectroscopic analysis of leaf extract in hexane in *Jasminum azoricum* L. *Recent Research in Science and Technology*, 4(8), 170-172. <https://www.>

- researchgate.net/publication/330039394_FTIR_Spectroscopic_Analysis_of_Leaf_Extract_in_Hexane_in_Jasminum_Azoricum_L
- Johnson, T. A., Sohn, J., Inman, W. D., Bjeldanes, L. F., & Rayburn, K. (2013). Lipophilic stinging nettle extracts possess potent anti-inflammatory activity, are not cytotoxic and may be superior to traditional tinctures for treating inflammatory disorders. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 20(2), 143–147. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.09.016>
- Justo, O. R., Simioni, P. U., Gabriel, D. L., Tamashiro, W. M., Rosa, P.deT., & Moraes, Â. M. (2015). Evaluation of in vitro anti-inflammatory effects of crude ginger and rosemary extracts obtained through supercritical CO₂ extraction on macrophage and tumor cell line: the influence of vehicle type. *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 390. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0896-9>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>
- Kulshreshtha, A., & Ranawat, M. S. (2022). Secondary metabolites extraction using potent biologicals & phytochemical screening. <https://doi.org/10.56557/upjoz/2022/v43i12881>
- Labanca, F., Ovesnà, J., & Milella, L. (2018). *Papaver somniferum* L. taxonomy, uses and new insight in poppy alkaloid pathways. *Phytochemistry Reviews*, 17(4), 853–871. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9563-3>
- Lillo, A., Carvajal-Caiconte, F., Nuñez, D., Balboa, N., & Alvear Zamora, M. (2016). Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 42(2), 168–174. https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1669-23142016000200009&lng=es&tlng=es
- López, J. Á. S., Lendechy, M. A. V., Hernández, E. G., & Ojeda, G. A. S. (2018). Actividad antiinflamatoria in vitro de los extractos etanólico y hexánico de tallos de *Cuscuta jalapensis* Schltld. *Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 75, 20–27. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6579482>
- Lu, W., Su, X., Klein, M. S., Lewis, I. A., Fiehn, O., & Rabinowitz, J. D. (2017). Metabolite Measurement: Pitfalls to Avoid and Practices to Follow. *Annual review of biochemistry*, 86, 277–304. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-044952>
- Merecz-Sadowska, A., Sitarek, P., Śliwiński, T., & Zajdel, R. (2020). Anti-Inflammatory Activity of Extracts and Pure Compounds Derived from Plants via Modulation of Signaling Pathways, Especially PI3K/AKT in Macrophages. *International journal of molecular sciences*, 21(24), 9605. <https://doi.org/10.3390/ijms21249605>
- Mohammed, M. S., Osman, W. J., Garelnabi, E. A., Osman, Z., Osman, B., Khalid, H. S., & Mohamed, M. A. (2014). Secondary metabolites as anti-inflammatory agents. *J Phytopharmacol*, 3(4), 275–285. <https://doi.org/10.31254/phyto.2014.3409>
- Ng, Z. X., Samsuri, S. N., & Yong, P. H. (2020). The antioxidant index and chemometric analysis of tannin, flavonoid, and total phenolic extracted from medicinal plant foods with the solvents of different polarities. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9), e14680. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14680>

- doi.org/10.1111/jfpp.14680
- Paniagua-Zambrana, N.Y., Bussmann, R.W., & Romero, C. (2020). *Papaver somniferum* L. Papaveraceae. In: Paniagua-Zambrana, N., Bussmann, R. (eds) Ethnobotany of the Andes. Ethnobotany of Mountain Regions. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28933-1_218
- Rahman, H., Eswaraiah, M. C., & Dutta, A. M. (2015). In-vitro anti-inflammatory and anti-arthritis activity of *Oryza Sativa* Var. joha rice (an aromatic indigenous rice of Assam). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 15(1), 115-121. <https://www.semanticscholar.org/paper/In-vitro-Anti-inflammatory-and-Anti-arthritis-of-of-Rahman-Eswaraiah/82fddf25f6c02e6627b9e6da1023224a8b0d2668>
- 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(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Ricco, R. A., Agudelo, I., Garcés, M., Evelson, P., Wagner, M. L., & Gurni, A. A. (2011). Polifenoles y actividad antioxidante en *Equisetum giganteum* L.(Equisetaceae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(4). https://www.researchgate.net/publication/288359845_Polyphenols_and_antioxidant_activity_in_Equisetum_giganteum_L_Equisetaceae
- Salazar Camarillo, V. M. (2018). Determinación de la capacidad antioxidante del desecho producido por el insecto *Ulomoides Dermestoides*. [Tesis]. Universidad de Guadalajara.
- Saudagar, R. B., & Saokar, S. (2019). Anti-inflammatory natural compounds from herbal and marine origin. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(3), 669–672. <https://jddtonline.info/index.php/jddt/article/view/2906>
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Shah, K. H., & Patel, P. M. (2021). Evaluation of antioxidant activity of *Cedrela toona* Roxb. Leaf extracts. Himal. *Journal of Health Sciences*, 24-31. <https://core.ac.uk/download/pdf/480547403.pdf>
- Shekhawat, M. K., Deora, G. S., & Sarswati, S. (2025). Identification of bio-active compounds in hexane extract of *Plagiochasma intermedium* Lindenb. & Gottsche (A-liverwort) using UV, FT-IR, and GC-MS techniques. *Asian Journal of Applied Chemistry Research*, 16(4), 21–35. <https://doi.org/10.9734/ajacr/2025/v16i4352>
- Simões, R., Miranda, I., & Pereira, H. (2022). The Influence of Solvent and Extraction Time on Yield and Chemical Selectivity of Cuticular Waxes from *Quercus suber* Leaves. *Processes*, 10(11), 2270. <https://doi.org/10.3390/pr10112270>
- Talhok, R. S., Karam, C., Fostok, S., El-Jouni, W., & Barbour, E. K. (2007). Anti-inflammatory bioactivities in plant extracts. *Journal of medicinal food*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1089/jmf.2005.055>
- Verma, V., Ravindran, P., & Kumar, P. P. (2016). Plant hormone-mediated regulation of stress responses. *BMC Plant Biology*, 16, 86. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0771-y>