

Artículo original

Perfil fitoquímico, actividad biológica y fotoprotectora de las flores de *Aldama dentata* La Llave et Lex.

Phytochemical profile, biological and photoprotective activity of the flowers of *Aldama dentata* La Llave et Lex.

Isla Marylenlid^{1*}, Pérez Alida², Obregón Ysbelia², Aparicio Rosa², Cordero Yndra², Díaz Clara³, Isla José⁴, Chacón Carmen⁴, Fernández Jhender¹, †Rojas-Fermín Luis².

¹Departamento de Farmacia Galénica, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, CP 5101, República Bolivariana de Venezuela. ²Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, C.P. 5101, República Bolivariana de Venezuela. ³Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ⁴Departamento de Química, Instituto Universitario de Tecnología Agro Industrial Región Los Andes, San Cristóbal, CP 5001, República Bolivariana de Venezuela.

Recibido: julio de 2020 –Aceptado: septiembre de 2020

RESUMEN

Las flores secas de *Aldama dentata* (Asteraceae), fueron extraídas con etanol; se le realizó tamizaje fitoquímico. Se comprobó la presencia de lactonas, flavonoides, y compuestos fenólicos. Se cuantificaron fenoles y flavonoides mediante la reacción de Folin Ciocalteu y AlCl₃, respectivamente. Los resultados confirmaron que posee una cantidad cuantificable de estos compuestos, por lo que se evaluó la actividad antimicrobiana, empleando el método de difusión en agar con discos, frente a microorganismos de referencia internacional. El extracto resultó activo contra *S. aureus*, *P.aeruginosa*, *K. pneumonie* y *E. coli*. La actividad antioxidante mostró un % INH (Porcentaje de Inhibición) del 91,17%, muy cercano al ácido ascórbico que fue de 95,83%, lo que se traduce en un alto poder antioxidante, que influye en el Factor de Protección Solar (FPS) que fue de 15, catalogado como “alto”. Es la primera vez que se reporta el tamizaje fitoquímico, la actividad antimicrobiana, antioxidante y fotoprotectora de esta especie.

influences the Sun Protection Factor (SPF) that was 15, classified as “high”. It is the first time that

PALABRAS CLAVE

Asteraceae, *Aldama dentata*, tamizaje fitoquímico, actividad antimicrobiana, actividad antioxidante y fotoprotectora.

ABSTRACT

The dried flowers of *Aldama dentata* (Asteraceae), were extracted with ethanol; Phytochemical screening was performed. The presence of lactones, flavonoids, and phenolic compounds was checked. Phenols and flavonoids were quantified by the reaction of AlCl₃ and Folin Ciocalteu respectively. The results confirmed that it has a quantifiable amount of these compounds, so antimicrobial activity was evaluated, using the method of dimming agar with discs, versus international reference microorganisms. The extract was active against *S. aureus*, *P.aeruginosa*, *K. pneumonie* and *E. coli*. Antioxidant activity showed % INH (inhibition percentage) of 91.17%, very close to ascorbic acid which was 95.83%, which results in a high antioxidant power, which

phytochemical screening, antimicrobial, antioxidant and photoprotective activity of this species is reported.

KEY WORDS

Asteraceae, *Aldama dentata*, phytochemical screening, antimicrobial activity, antioxidant and photoprotective activity.

INTRODUCCIÓN

La sensibilidad del mundo científico ante el detrimento generado por el estrés oxidativo en todos los ámbitos de la salud, y el hecho de que la radiación ultravioleta sea el agente más activo en la producción de daño cutáneo, hace que en la actualidad se esté en la investigación permanente de sustancias antioxidantes que intervengan en este terreno tanto por vía tópica, como sistémica [1].

Según lo establecido en la normativa de la Comunidad Andina de Naciones [2] en la Decisión 516 del mes de marzo del 2002, Artículo 21, es posible emplear nuevas sustancias de origen local o sub-regional, que no se encuentren consideradas en los listados internacionales oficiales, siempre y cuando un país miembro apruebe su comercialización e informe de este hecho a los demás países miembros. En este sentido se impulsa un proceso de exploración y desarrollo basado en el uso sostenible de la enorme diversidad biológica de los países andinos.

Según Rozema y cols. [3], los metabolitos secundarios como los fenoles y los flavonoides se encuentran abundantemente en el reino vegetal y pueden ser obtenidos fácilmente en los extractos de las plantas. Estos metabolitos poseen una gran capacidad de inhibir la degradación oxidativa de materiales orgánicos. Tienen una función de protección contra la radiación UV; además de reducir el daño oxidativo provocado por longitudes de onda corta y disminuir la radiación UVB. En relación a esto, una gran cantidad de plantas de la familia Asteraceae poseen una elevada resistencia a la radiación solar (debido a estos compuestos), lo que les facilita adaptarse a una gran cantidad de ecosistemas [4].

En conexión con lo antes expuesto, la *Aldama dentata* La Llave et Lex. (Fig. 1), es una especie perteneciente a la familia Asteraceae, Tribu Heliantheae [5]. Esta “Compuesta” es una de las malezas tropicales más comunes en Mesoamérica, especialmente en agroecosistemas tradicionales. Pero, también puede ser un problema en cultivos comerciales, como la caña de azúcar. Es capaz de formar poblaciones grandes. Es conocida como “garañona”, “consentida”, “hierba amarilla”, “hierba de salud”, “flor amarilla”, “fresadilla”, “matón de barrendero”, “rosilla” y fuera de esta área como “acahuale”, “amor seco amarillo”, “mozote” y “mozote fino” [6-8]



Fig.1: Imágenes descriptivas de *Aldama dentata* Tomado de Natural Resources Conservation Service (NRCS). *The PLANTS Database*. [9]

Se le encuentra distribuida desde el centro de México hasta Venezuela [6]. Inicialmente restringida a la tierra caliente, pero extendiéndose en épocas recientes a otras regiones [7]. Es arvense en parcelas de cultivo, ruderal en los lados de los caminos, en campos baldíos y en plantaciones. Se registra como maleza en cultivos. Es útil como forrajera [8-10].

La especie *Aldama dentata* carece de estudios acerca de su composición química, por lo que, para tener una aproximación a ella, se abordó de manera general el estudio químico reportado por los investigadores sobre el género *Aldama*, el cual ha revelado una ocurrencia de *diterpenos* y *lactonas sesquiterpénicas*, marcadores taxonómicos de la familia Asteraceae [11]. Asimismo, se han detectado en menor proporción flavonoides, taninos, alcaloides y compuestos fenólicos [12].

En México, esta planta es empleada para tratar padecimientos del hígado [13]. El uso tradicional reportado en otros países es como hipocolesteromiente [14]. No existe documentación que amplíe estos datos, así como

investigaciones que soporten su composición química que respalden dicha actividad. El uso principal que se le da a esta especie invasora (maleza) es como forraje para animales y como un recurso de biorremediación de suelos [15], por lo que el presente estudio planteó determinar el perfil fitoquímico de esta planta y evaluar el potencial biológico y fotoprotector de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de sus flores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Fue recolectado en la ciudad de Mérida, Municipio Libertador, del Estado Mérida, en el mes de febrero de 2019, Altitud: 1620 m.s.n.m. Temperatura promedio 24°C y fue identificada y clasificada por el Ing. Forestal Juan Carmona, del Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (Mérida). Se elaboró el respectivo *Voucher Specimen*, el cual reposa en el Herbario MERF “Luis Ruíz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes bajo el número MI 03. Colectores de los especímenes: Ing. Juan Carmona y Farm. Marylenlid Isla.

Extracción y Tamizaje fitoquímico. Las flores (Fig. 2) se sometieron a secado por recirculación de aire a 40°C, y posteriormente molidas. Con el polvo (grueso) obtenido, se realizó el proceso de doble extracción con etanol destilado en reflujo a 50°C x 1 hora. Se filtró (Fig. 3) y el líquido filtrado se llevó al Rotavapor a 60°C para concentrar el extracto. Una vez obtenido el concentrado, se procedió a envasarlo y rotularlo, para llevarlo a estufa a 40°C hasta secarlo por completo. Se realizó la determinación de sus características organolépticas y el cálculo del rendimiento. Sobre este material se llevaron a cabo los ensayos fitoquímicos por triplicado, con la finalidad de determinar la presencia de los diferentes metabolitos secundarios, usando los procedimientos establecidos [16].

Prueba de solubilidad [17,18] En una batería de tubos de ensayo se colocaron 20 mg del extracto etanólico desecado; se añadió 1 mL de solventes de diferente polaridad (agua destilada, metanol,

etanol, *n*-butanol, acetato de etilo, cloroformo, acetona, benceno, y éter de petróleo) y se procedió a observar el comportamiento.



Fig. 2: Material Vegetal seleccionado para proceder al secado



Fig. 3: Filtración y concentración del filtrado

Tamizaje fitoquímico cuantitativo. Cuantificación de fenoles totales. La determinación de fenoles se realizó mediante la técnica de Folin-Ciocalteu, la cual se basa en la propiedad de los fenoles de reaccionar frente a agentes oxidantes. Este reactivo contiene molibdato y tungstato sódico que, al reaccionar con los compuestos fenólicos presentes, forman complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. En medio básico la transferencia de electrones reduce estos complejos a óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), cromógenos de color azul intenso que son proporcionales a la cantidad de grupos fenólicos presentes en la molécula de interés [19, 20]. La lectura de la absorbancia del complejo se realizó a 760 nm en un espectrómetro ultravioleta - visible. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico (patrón) (Fig. 4). Se procedió a pesar 2 mg de extracto, el cual se disolvió en 50 mL de agua destilada. Se tomó 0,5 mL de la disolución a la cual se le adicionó 0,75 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N. Se dejó reposar alrededor de 5 minutos y se adicionó 0,75 mL de carbonato de sodio al 20%. Se agitó y se dejó reposar por 2 h. Se analizó por UV-Vis (Spectronic GENESYS™ 10 Bio) a 760 nm [20]. Los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico equivalentes por gramo de extracto de *Aldama dentata*.

Cuantificación de flavonoides totales. Para conocer la cantidad de flavonoides totales presentes en el extracto etanólico de *Aldama dentata*, se empleó el reactivo de AlCl_3 , según el método modificado por Dowd descrito por Lamien-Meda y cols. [21], gracias a la reactividad que presentan los flavonoides con esta sustancia química en la formación de complejos.

Se construyó una curva patrón de rutina (flavonoide estándar), en un intervalo, de (0-32) $\mu\text{g/mL}$ y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (Spectronic GENESYS™ 10 Bio) a 415 nm. En un tubo de ensayo, se colocó 1 mL de la solución etanólica del extracto a 0,5 mg/mL , y se mezcló con 1 mL de solución de AlCl_3 en EtOH (2%). Se incubó por 10 min y se leyó la absorbancia a 415 nm, frente a una muestra blanco que contenía etanol: extracto (1:1) sin AlCl_3 . Los resultados se expresaron como μg equivalentes de rutina/mg de extracto (μg rutina/mg extracto seco).

Determinación de la actividad antioxidante mediante el método de Cuantificación del Poder Captador del Radical Libre DPPH• (1,1-difenil-2-picrilhidracilo): El efecto del extracto de *Aldama dentata* sobre el radical DPPH• se estimó utilizando el método descrito por Díaz y cols, [22] y se determinó calculando el porcentaje de inhibición oxidativa (%INH) por medio de la siguiente ecuación:

$$\% \text{INH} = \frac{(\text{Abs. DPPH}^*) - (\text{Abs. Muestra})}{(\text{Abs. DPPH}^*)} \times 100$$

La cuantificación de %INH se realizó preparando una solución etanólica del radical DPPH 0,06 mM (23,64 mg/L) y una solución etanólica de ácido ascórbico 1 mM (176 $\mu\text{g/mL}$ como patrón de referencia). Ambas soluciones se almacenaron en frascos color ámbar para protegerlos de la luz.

Para la prueba, se colocó una alícuota de 0,2 mL de la muestra a analizar en tubos de ensayo y se adicionaron 2,8 mL de solución etanólica de DPPH, se dejó en incubación por 30 minutos a temperatura ambiente y en completa ausencia de luz. Se realizaron las lecturas de las absorbancias en un espectrofotómetro UV-visible (Spectronic GENESYS™ 10 Bio) a 517 nm. Una solución de 2,8 mL de DPPH y 0,2 mL de etanol fue usada

como control. El ácido ascórbico se trató de igual manera que la muestra en estudio.

Determinación de la Concentración Efectiva 50 (CE₅₀): Para determinar la CE₅₀, la muestra en estudio debe obtener un %INH mayor al 50%. La CE₅₀ indica la mínima concentración necesaria de un antioxidante para reducir en un 50% la cantidad de radicales libres presentes en el medio [23]. Para ello se prepararon diluciones de la muestra en concentraciones de 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2 y 4 mg/mL , calculándose la CE₅₀ por regresión lineal. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Determinación del Factor de Protección Solar. Método In Vitro. La determinación del Factor de Protección Solar *In Vitro*, empleando la técnica propuesta por Mansur y cols. 1986 [24], consiste en un método espectrofotométrico en el cual la formulación se diluye en etanol absoluto hasta una concentración de 0,2 mg/mL , condición establecida para crear una correlación con el método *In Vivo*. A través de la fórmula matemática desarrollada según el método, se relacionan los valores de absorbancia obtenidos de las muestras con el FPS de la formulación.

$$\text{FPS} = \text{FC} * \Sigma_{290} * \text{EE}_{\lambda} * I_{\lambda} * \text{Abs}_{\lambda}$$

Dónde: FPS= Factor de Protección Solar, $\text{FC} * \Sigma_{290} = 10$ (factor de corrección), $\text{EE}_{(\lambda)}$ = Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda λ , $I_{(\lambda)}$ =Intensidad del sol en la longitud de onda λ , $\text{Abs}_{(\lambda)}$ =Absorbancia de la solución en la longitud de onda λ

La relación entre el efecto eritemogénico y la intensidad de la radiación de cada longitud de onda ($\text{EE}(\lambda) \times I(\lambda)$) es una constante determinada por Sayre y cols. 1980 [25] (Tabla 1).

TABLA 1

Constante determinada por Sayre y cols. (1980) ($\text{EE}_{(\lambda)} \times I_{(\lambda)}$).

Longitud de onda(nm)	290	295	300	305	310	315	320	TOTAL
$\text{EE}_{(\lambda)} \times I_{(\lambda)}$	0,0150	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0839	0,0180	1,000

Actividad antimicrobiana y antifúngica: Se empleó el método de difusión en discos, en agar fundamentado en el método de Kirby-Bauer [26]. Los ensayos se desarrollaron contra microorganismos de referencia internacional Mueller Hinton. Los extractos se emplearon en una concentración de 1000 ppm. Seguidamente se incubaron a 37°C por 24 horas. Se analizó el extracto, los solventes usados (control negativo) y antibacterianos respectivos de acuerdo a la cepa usada (control positivo).

El resultado positivo de esta actividad se observa con la presencia de halos de inhibición del crecimiento de la cepa utilizada [27], los cuales se miden y se comparan los efectos de las distintas sustancias sobre el microorganismo estudiado, con el antibiótico control. La lectura de los resultados representa la actividad *In Vitro* de la sustancia [28].

Para la determinación de la actividad antifúngica, se procedió de la misma manera que en el anterior (difusión del extracto de *A. dentata* en discos), la cepa en estudio fue *Candida albicans* (CDC-B385), la cual se inoculó en agar Müeller-Hinton (20 mL) [29,30] con algunas modificaciones (suplementado con glucosa 2% p/v y azul de metileno (0,5 µg/mL), y la concentración de partida del extracto para colocar en los discos fue de 500 ppm. Los ensayos se realizaron por duplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se observan los datos derivados del proceso de obtención del extracto etanólico de la especie *Aldama dentata*. En esta tabla se muestra el porcentaje de rendimiento el cual resultó ser de 13,59%; así como las características organolépticas, como son el color, olor y consistencia.

El dato más relevante es el porcentaje de rendimiento el cual está alrededor del 13%. Igualmente, el color y el olor suele ser característico de los extractos vegetales obtenidos con etanol, destacando un olor dulzaino. La consistencia es resinosa/siruposa, que hacen fácil su manipulación. La dupla de olor dulzaino y consistencia siruposa puede deberse a un mayor

Staphylococcus aureus (ATCC 25923), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), y *Candida albicans* (CDC-B385) inoculadas en agar contenido de glucósidos y mucílagos, así como compuestos volátiles (probablemente aldehídos) [31].

TABLA 2

Características generales del extracto etanólico obtenido

PARAMETRO	<i>Aldama dentata</i>
Peso flores secas	64,46 g
Peso extracto seco	8,76 g
% De rendimiento	13,59%
Color	Amarillo Ocre
Olor	Dulzaino

La Tabla 3 reúne los datos obtenidos de la caracterización desde el punto de vista de la solubilidad del extracto de *A. dentata*

TABLA 3

Solubilidad del extracto

Solventes	<i>Aldama dentata</i>
Agua	+++
Metanol	+++
Etanol	+++
Cloroformo	+
n- Butanol	+
Acetato de Etilo	++
DMSO	+++
Acetona	++
Benceno	+/-
Éter de petróleo	+/-

DMSO: dimetilsulfóxido,
+++ libremente soluble ++ Muy soluble +
Soluble +/- Poco Soluble - Insoluble

El extracto de *A. dentata* exhibió excelente solubilidad en solventes polares, así como en solventes de polaridad intermedia. Solamente en benceno y en éter de petróleo mostró poca solubilidad. A medida que disminuía la polaridad, disminuía la solubilidad del extracto en dicho solvente. Es importante señalar que un sólido es soluble en un disolvente cuando al mezclarlos forma una fase homogénea (generalmente en una relación de 0,1 g de soluto en máximo 3 mL de disolvente) [32].

De estos resultados se puede inferir que la mayoría de los compuestos presentes en el extracto de *A. dentata*, son de naturaleza polar, también influenciado por el solvente empleado en la extracción (etanol). Los resultados obtenidos (Tabla 4) revelaron la presencia de triterpenos, compuestos fenólicos, taninos, glicósidos cardiotónicos, así como flavonoides y lactonas sesquiterpénicas en moderada cantidad y ausencia de alcaloides, saponinas, quinonas, antraquinonas, y cumarinas.

TABLA 4
Tamizaje fitoquímico

METABOLITOS/ PRUEBAS	<i>Aldama dentata</i>
Alcaloides: - Mayer - Wagner - Dragendorf	- - -
Saponinas (Espuma)	-
Esteroles/Triterpenos (Lieberman Bouchard)	+(verde)
Compuestos fenólicos (FeCl ₃)	+++
Taninos (Gelatina-Sal)	++
Flavonoides (Shinoda modificado)	+
Quinonas (NaOH, UV)	-
Antraquinonas (NH ₄ OH)	-
Cumarinas (NH ₄ OH)(UV)	-
Lactonas sesquiterpénicas (Hidroxilamina, KOH, HCl, FeCl ₃)	++
Glicósidos Cardiotónicos - Kedde - Lega - Baljet	+ + +

Leyenda: - No observable, + Escaso, ++ Moderado,
+++ Abundante,

Ahora bien, en cuanto a estos resultados obtenidos en el proceso de Tamizaje Fitoquímico, se revela que esta especie posee componentes con actividades medicinales importantes, como Terpenos (actividad Analgésica, Antiinflamatoria), Taninos (Antimicrobianos, Antioxidantes, Antifúngicos), Flavonoides (Antiinflamatorios, Osteogénicos, Antimicrobianos, Antioxidantes, Antitumorales y posible actividad Fotoprotectora), Lactonas sesquiterpénicas (Antitumorales), que pueden constituir potenciales activos en preparados farmacéuticos y cosméticos [33,34].

También resulta importante resaltar, que los metabolitos secundarios aislados de la familia

Asteraceae son diversos. Algunos flavonoides y aceites volátiles son comunes en casi todas las especies [35] y dos grupos de sustancias son “marcadores quimiotaxonómicos” de las Asteráceas: las lactonas sesquiterpénicas y los compuestos poliactilénicos. En general estas plantas carecen de alcaloides, salvo los de núcleo pirrolizidínico. Finalmente, es llamativa la ausencia de iridoides, aminoácidos no proteicos y taninos verdaderos [4].

La presencia de lactonas sesquiterpénicas es frecuente en las partes aéreas (hojas y flores) de plantas pertenecientes a la familia Asteraceae siendo lo suficientemente típicas para tener valor taxonómico [16]. Asimismo, los triterpenos más característicos de la familia Asteraceae son los esteroides monohidroxilados, también son comunes los dioles del tipo oleanol, ursanol y lupeol los cuales se encuentran libres, acetilados o más frecuentemente esterificados con ácido acético o ácidos grasos en las fracciones apolares de las raíces, tallos, flores y frutos [36]

Por último, los glicósidos o, también conocidos como heterósidos, son sustancias químicas no tóxicas, cuya estructura se caracteriza, por contener una o más moléculas de azúcar, además de un cuerpo activo no azucarado, denominado aglicón, aglicona o genina. Los glicósidos se clasifican, de acuerdo con la naturaleza de la genina en: sulfurados, cianógenos, saponínicos, cardiotónicos, fenólicos, flavónicos, cumarínicos, esteróidicos, triterpénicos, antraquinónicos [37].

Esta clase de compuestos poseen gran potencial terapéutico, ya que muchos de ellos tienen utilización en el área de la medicina como por ejemplo los glicósidos flavónicos que son empleados en la normalización de la resistencia y permeabilidad de los vasos capilares [37] o el de los glicósidos cardiotónicos empleados como medicamentos para tratar insuficiencias cardíacas [38]

De acuerdo a lo anterior, y continuando con el análisis de los resultados mostrados en la Tabla 4, se puede destacar la ausencia de alcaloides, concordando con lo reportado para las especies de la familia de las Asteraceae [39].

Los compuestos fenólicos (incluyendo taninos y flavonoides) parecieran ser los metabolitos secundarios mayoritarios, por lo que los pasos siguientes en este estudio conllevaron a cuantificarlos y determinar su actividad antimicrobiana, capacidad antioxidante, y fotoprotectora. Los flavonoides son un grupo de compuestos polifenólicos, que constituyen principalmente los pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana [40].

Tamizaje fitoquímico cuantitativo.

Cuantificación de fenoles totales: En la Fig. 4 se puede apreciar un coeficiente de correlación (R^2) de 0,9988, lo cual indica una alta dependencia lineal entre las variables relacionadas.

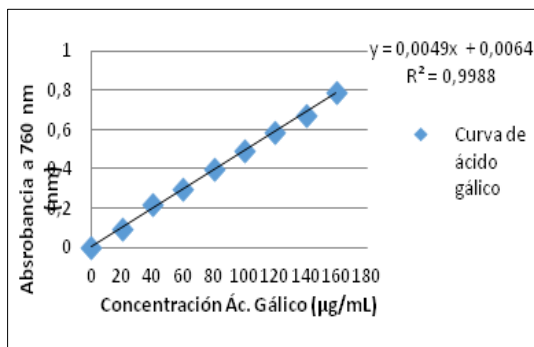


Fig. 4: Curva de calibración del ácido gálico

Tomando en consideración las lecturas de absorbancia del extracto evaluado a una concentración de 0,5 mg/mL y la ecuación obtenida de la regresión lineal de la Fig. 4, se calculó la concentración de los núcleos fenólicos tomando como referencia el ácido gálico y este resultado se expresó como µg equivalentes de ácido gálico (EAG) por mg de extracto seco (Tabla 5).

TABLA 5

Contenido Total de Compuestos Fenólicos

Especies analizadas	Concentración extractos etanólicos (mg/mL)	Concentración en µg Ácido gálico/mg Extracto ± DE
<i>Aldama dentata</i>	0,5	67,411 ± 0,057

El resultado es el promedio de tres mediciones por separado la Concentración en µg de Ácido gálico/mg Extracto ± Desviación Estándar (DE).

Cuantificación de flavonoides totales: En la Fig. 5, se puede apreciar un coeficiente de correlación (R^2) de 0,9987, lo cual indica una alta dependencia lineal entre las variables relacionadas. En la Tabla 6 se expresan los µg equivalentes de rutina, por mg de extracto seco

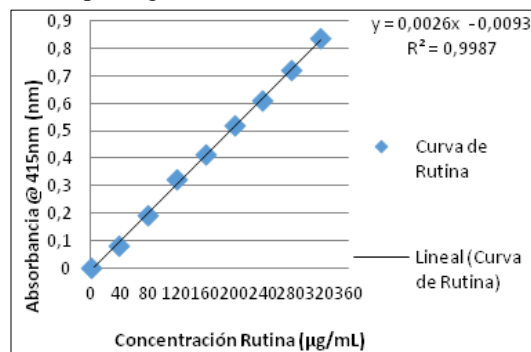


Fig. 5: Curva de calibración de los flavonoides

TABLA 6

Contenido Total de Flavonoides

Especies analizadas	Concentración (mg/mL)	Concentración en µg Rutina/mg Extracto ± DE
<i>Aldama dentata</i>	0,5	82,508 ± 1,365

Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado la Concentración en µg de Rutina/mg Extracto ± Desviación Estándar (DE).

Los resultados anteriores, reflejados en la Tablas 5 y 6, confirman que el extracto etanólico de *Aldama dentata* posee una cantidad cuantificable de compuestos fenólicos y flavonoides, metabolitos estos que poseen una gran importancia biológica y farmacológica, los cuales se producen en la planta en respuesta a la acción de la radiación UV, como un mecanismo de protección contra los daños oxidativos de ésta. Constituyen también los pigmentos que intervienen en el proceso de reproducción de la especie [40].

Actividad antimicrobiana: En relación a la evaluación de la actividad antibacteriana, cuyos resultados se reflejan en la Tabla 7, el extracto etanólico de *A. dentata* mostró actividad con inhibición del desarrollo de las bacterias *Gram* positivas, *S. aureus* (mayor inhibición) y *Gram* negativas como *K pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, siendo inactivo contra *E. faecalis*.

La actividad observada frente a estos microorganismos se puede atribuir a la presencia de flavonoides y triterpenos, compuestos a los cuales se les ha descrito actividad antibacteriana [33,34].

TABLA 7
Actividad antibacteriana de la *A. dentata*

Bacteria	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>
Halo de inhibición (mm)	13 ++	8 +	7 +	-	8 +

(-) inactivo, (+) Diámetro de inhibición entre 7-10 mm, (++) Diámetro de inhibición entre 11-15 mm, (+++) Diámetro de inhibición entre 16-20 mm, (+++++) Diámetro de inhibición por encima de 20 mm.

Estos resultados son de gran valor debido a que, entre las bacterias que presentan mayor resistencia se encuentra el *Staphylococcus aureus* que se ha convertido en un problema de salud pública a nivel nosocomial; es habitual en muchas regiones aumentando así su morbilidad, mortalidad y costo en los centros de atención sanitaria asociados a infecciones intrahospitalarias [41]. Este es el primer reporte de actividad antibacteriana de las flores de *Aldama dentata*. El extracto de *A. dentata* no presentó actividad antifúngica contra *C. albicans*.

Actividad Antioxidante: El análisis del extracto etanólico de *A. dentata*, cuyos resultados se observan en la Tabla 8, arrojó un % Inhibición (%INH) de 91,17%, muy cercano al Patrón de ácido ascórbico que fue de 95,83%.

TABLA 8

Actividad Antioxidante *In Vitro* por el método de secuestro del radical 2,2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH).

Especies analizadas	Concentración extractos etanólicos y patrón referencia ($\mu\text{g/mL}$)	% INH	DE
<i>Aldama dentata</i>	1000	91,17	0,24
Ácido Ascórbico (Patrón)	-	95,83	0,003

Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado del Porcentaje de Inhibición (% INH) \pm Desviación Estándar (DE) de los extractos etanólicos ensayados

Es importante señalar, que el hecho de tener un %INH mayor al 90% representa un alto poder antioxidante, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en los ensayos de tamizaje fitoquímico efectuados, donde se determinó la presencia abundante de compuestos con núcleos fenólicos y flavonoides, sustancias a las que les atribuye esta actividad.

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, con los que pueden formar quelatos con hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante [42]. Adicionalmente, al poseer anillos aromáticos, que tienen dobles enlaces conjugados, le permiten a la molécula absorber la energía de la radiación UV, produciendo una estabilización de los electrones por resonancia [43]. Allí radica la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo. Es el primer reporte de actividad antioxidante para esta especie.

Determinación del Factor de Protección Solar *In Vitro*: En la Tabla 9 puede observarse que el extracto etanólico de *Aldama dentata* presentó un valor de Factor de Protección Solar (FPS) *In Vitro* de 15, que según la clasificación de la European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association (COLIPA), está catalogado como de "Alta protección" [44].

TABLA 9:

Resultado obtenido en la determinación del Factor de Protección Solar *In Vitro* de los extractos etanólicos de las plantas en estudio.

Extracto etanólico	*Valor de FPS calculado + DE
<i>Aldama dentata</i>	15,15 \pm 0,15

*FPS calculado mediante la ecuación de Mansur y cols, 1986. Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado del Factor de Protección Solar (FPS) \pm Desviación Estándar (DE) de las muestras analizadas.

Los fotoprotectores son sustancias que poseen compuestos aromáticos conjugados con un grupo carbonilo. Absorben los rayos ultravioleta de mayor energía (Longitud de onda corta) con excitación a un estado de energía superior. Al retornar al estado basal, la energía liberada es de menor magnitud (longitud de onda más larga) [45].

Este resultado puede correlacionarse con los ensayos anteriores, donde se confirmó la presencia de fenoles y flavonoides en esta especie, que se traduce en un elevado poder antioxidante y, en consecuencia, una alta fotoprotección.

CONCLUSIONES

Los principales metabolitos secundarios encontrados en el extracto etanólico de *Aldama dentata* fueron lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, glicósidos cardiotónicos, taninos, compuestos fenólicos, y flavonoides; siendo estos dos últimos grupos, los de mayor importancia en lo que respecta a la actividad biológica y fotoprotectora. El analito resultó efectivo en la inhibición del crecimiento de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. aureus*, siendo esta última la de mayor inhibición; permaneciendo inactivo contra *E. faecalis* y *Candida albicans*. Igualmente, a este grupo de metabolitos se les atribuye la elevada actividad antioxidante y fotoprotectora que exhibió el extracto, lo que conlleva a proponer a esta especie, *Aldama dentata*, como una potencial fuente alternativa farmacológica y cosmética, que permite contrarrestar el deterioro oxidativo al que se encuentra expuesto el cuerpo humano y que pueden proteger la piel contra los efectos adversos de la radiación UVA-UVB.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] De Gálvez M. Antioxidantes en fotoprotección ¿Realmente funcionan? Actas Dermosifiliográficas. 2010; 101(3): 197-200.
- [2] Comisión de la Comunidad Andina (CAN) DECISIÓN 516. Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos. Gaceta Oficial del Acuerdo de Cartagena, marzo 2002; N° 771.
- [3] Rozema J, Van de Staij J, Björn L, Caldwell, M. UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. Trends Ecol Evol; 1997; 12 (1): 22–28.
- [4] Del Vitto L. & Petenatti E. Asteráceas de importancia económica y ambiental. Primera Parte. Sinopsis Morfológica y Taxonómica, Importancia ecológica y plantas de interés industrial. Multequina; 2009; 18 (2): 87-115.
- [5] Nash, D.L. & Williams, L.O. Flora of Guatemala, Compositae. Part XII. Fieldiana Botany; 1976; 24:96.
- [6] Rzedowski G & Rzedowski, J. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª ed. México: Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2001.
- [7] Rzedowski G & Rzedowski, J. Manual de malezas de la región de Salvatierra, Guanajuato. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo complementario XX. Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2004; Michoacán, México.
- [8] Rzedowski G & Rzedowski, J. Compositae. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Fascículo 157. Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2008; Michoacán, México.
- [9] Natural Resources Conservation Service (NRCS). [Página Web] «PLANTS Profile, *Aldama dentata*». The PLANTS Database United States Department of Agriculture. [acceso: 21 de mayo de 2018]. Disponible en <https://www.plants.sc.egov.usda.gov>
- [10] Villaseñor J. & Espinosa-García, F. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. 1998; México.
- [11] Bombo A, Appezzato B, Aschenbrenner A, Spring, O. Capitulate glandular trichomes in *Aldama discolor* (Heliantheae–Asteraceae) morphology metabolite profile and sesquiterpene biosynthesis. Plant Biology. 2016; 18: 455 – 462.
- [12] Bombo, A, Oliveira T, Oliveira A, Rehder V, Appezzato B. Anatomy and essential composition on the underground system of three

- species of *Aldama* La Llave (Asteraceae) J Torrey Botan Soc.; 2014; 141: 115- 125.
- [13] Torres V, Lozada J, Enriquez S, Arroyo O. Estudio Etnobotánico y evaluación citotóxica de extractos etanólicos de plantas de uso medicinal en Tlalchi, Ixhuacan de los Reyes Veracruz Mexico. Rev Biol Agro Tuxpan. 2019; 6(2): 2082-2089.
- [14] Magaña A, Gama C, Mariaca R. El uso de plantas medicinales en comunidades Maya Chontales, México. Polibotánica. 2010; N° 29: 213-262.
- [15] Dasgupta N, Barrera M, Alvarado C, Castillo O, Zaragoza E, Alexander S, Landsberger S. The Uptake of Copper by *Aldama dentata*: Ecoysiological response its modeling and the implication for phytoremediation. Water Air Soil Pollut. 2011; 220: 37- 55.
- [16] Domínguez, X. A. Métodos de investigación fitoquímica. México: Limusa. 1979.
- [17] Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2° ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994.
- [18] Valencia C. Fundamentos de fitoquímica. México: Limusa.; 1995. p. 235.
- [19] Ávalos K, Sgropo S, Avanza J. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales en vinos de origen nacional. Facena. 2003; 19: 11-19.
- [20] Gutiérrez D, Ortiz C, Mendoza C. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. [Resumen] Simposio de Metrología. Santiago de Querétaro, México. 2008.
- [21] Lamien-Meda, A, Lamien C, Comparoé M, Kiendrebeogo M, Zeba B, Millogo J. Polyphenol content and antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from *Burkina faso*. Molecules. 2008; 13 (3), 581-594.
- [22] Diaz L, De Montijo S, Medina A. L, Melendez P, Laurence V, Marti-Mestre G. Activity of ethanolic extract leaves of *Machaerium floribundum* against acne inducing bacteria, and their cytoprotective and antioxidant effects in fibroblast. Rev Peru Biol. 2011; 18 (2), 153-158.
- [23] Plaza M, Diaz de Torres L, Lucking R, Viscaya, M, Medina, G. Antioxidant activity, total phenols and flavonoids of lichens from Venezuelan Andes. J Pharm Pharmacogn Res. 2014; 2 (5), 138-147.
- [24] Mansur J, Breder M, Mansur M, Azulay R. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. An. Bras. Dermatol. 1986; 61(1): 121-124 p.
- [25] Sayre R, Desrochers D, Marlow E. Sunscreen testing methods: *In Vitro* predictions of effectiveness. J Soc Cosm Chem. 1980; 31 (1): 133-43.
- [26] CLSI. Performarce Standars for Antimicrobial Susceptibility Testing; 29ed. CLSI Supplement M 100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. Pennsylvania, USA. 2019.
- [27] Araujo J, & Salas R. Actividad antimicrobiana del extracto de la vaina de *Caesalpinia spinosa* “tara” frente a *Staphylococcus aureus*. Científica. 2009; 6(2), 142-155.
- [28] Mbata T, & Debiao S. Antibacterial activity of the crude extract of Chinese Green Tea, AJB [Revista en internet]. 2006. [acceso: 22 de abril de 2018] 7(10) 1571- 1573. Disponible en: <http://www.academicjournals.org/AJB>
- [29] Rodríguez E. Bacteriología General. Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica. 2005; 339-340.
- [30] Romero R. Microbiología y Parasitología Humana. México. Editorial Médica Panamericana C.A. 2007; p 64.
- [31] Uduak E. Proximate composition and phytochemical constituents of *Aspilia Africana* (Pers) C.D. Adams and *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A Gray Stems (Asteraceae). IJPBR. 2013; 1 (1): 23-30.
- [32] Gennaro, A. R. Remington Farmacia (Tomo I). Edt. Médica Panamericana: Argentina. 2003; 1376 p.
- [33] Jian-Qiao G, Gills J, Jung E, Mata E, Hawthorne M, Axelord F, Chavez P, Fong H, Mehta R, Pezzuto J, Kinghorn D. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with potential Cancer

- Chemopreventive Activity. J Nat Prod, 2002; 66: 532-536.
- [33] Jian-Qiao G, Gills J, Jung E, Mata E, Hawthorne M, Axelord F, Chavez P, Fong H, Mehta R, Pezzuto J, Kinghorn D. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with potential Cancer Chemopreventive Activity. J Nat Prod, 2002; 66: 532-536.
- [34] Savithamma N, Linga M, Bhumi G. Phytochemical screening of *Thespesia polpulnea* L. y *Tridax procumbens* L. J. Chem Pharm Res. 2011; 3 (5): 28-34.
- [35] Bohm B & Stuessy T. Flavonoids of the family (Asteraceae). Springer Wien, New York. 2001
- [36] Dewick, P. Medicinal natural product: Biosynthetic Approach . 3era ed. Wiley Editors: United Kingdom. 2009. 547 p.
- [37] Sharapin, N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Convenio Andrés Bello: Bogotá. 2000.
- [38] Arango G. Introducción al metabolismo secundario de compuestos derivados del ácido shikimico [acceso: 03 de marzo de 2019] 2008. Disponible en [http://www.farmacia.udea.edu.co/Introducción al metabolismo secundario ff/2001b.pdf](http://www.farmacia.udea.edu.co/Introducción%20al%20metabolismo%20secundario%20ff/2001b.pdf)
- [39] Baruah N, Sarma J, Barua N, Soneswar S, Sharma R. Germination and Growth inhibitory sesquiterpene lactones and a flavone from *Tithonia diversifolia*. Phytochemistry, 1994. 36(1): 29-36.
- [40] Aherne SA & O'Brien NM. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. Nutrition, 2002; 18:75-81.
- [41] García G, Rodríguez G, Velasco J, Villalobos D, Ramírez I. Actividad antimicrobiana y perfil fitoquímico de las hojas de *Connarus venezuelanus* B. var. *venezuelanus* (Connaraceae R. BR.). Rev Fac Farm. 2018; 60 (1): 11-17.
- [42] Havsteen, B. Flavonoids: A class of natural products of high pharmacological potency. Biochem Pharmacol. 1983; 32:1141-1148.
- [43] Edreva, A. The importance of nonphotosynthetic pigments and cinnamic acid derivatives in photoprotection. Agr Ecos Enviro. 2005; 106:135-146.
- [44] European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association. (COLIPA). International Sun Protection Factor (SPF) Test Method. (2006). M/389 EN: Bruselas. 7-12.
- [45] Bonet, R. y Garrote, A. Protección solar: nuevos activos. Offarm. 2011. 30 (3):51-58.
- Isla Marylenlid**, Orcid ID: 0000-0003-1154-3038
- Pérez Alida**, Orcid ID: 0000-0001-8910-4663
- Obregon Ysbelia**, Orcid ID: 0000-0001-6152-6696
- Aparicio Rosa**, Orcid ID: 0000-0002-5020-0954
- Cordero Yndra**, Orcid ID: 0000-0001-7015-2796
- Díaz Clara**, Orcid ID: 0000-0002-1287-8326
- Isla José**, Orcid ID: 0000-0002-2027-5795
- Chacón Carmen**, Orcid ID: 0000-0003-3096-4348
- Fernández Jhender**, Orcid ID: 0000-0002-4068-4764
- †**Rojas-Fermin Luis**, Orcid ID: 0000-0003-4508-1927