

SCREENING FITOQUÍMICO Y CAPACIDAD ANTIINFLAMATORIA DE HOJAS DE *Tithonia tubaeformis*

PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIINFLAMMATORY CAPACITY OF LEAVES FROM *Tithonia tubaeformis*

Joel Hinojosa Dávalos¹, Melesio Gutiérrez Lomeli¹, Fernando Siller López², Araceli Rodríguez Sahagún¹, Juan Alfredo Morales Del Río¹, Pedro Javier Guerrero Medina¹ y Carmen Lizette Del Toro Sánchez^{1*}

¹Centro Universitario de la Ciénega. Universidad de Guadalajara. Av. Universidad 1115, Ocotlán, Jalisco, México. | ²Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara. Sierra Mojada 950, Guadalajara, Jalisco, México.

RESUMEN

Poco se conoce sobre las aplicaciones y la naturaleza química de las sustancias y compuestos bioactivos de *Thitonia tubaeformis*. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar la presencia de fenoles, flavonoides, saponinas, alcaloides, esteroides, taninos y cumarinas a través de reacciones químicas en extractos metanol-agua. El rendimiento de los extractos y la capacidad antiinflamatoria se cuantificaron usando extractos metanólicos. Estos se obtuvieron de plantas de diferentes regiones de Jalisco: Norte y Sur de La Barca (NB y SB), Ocotlán (NO y SO) y Tepatitlán (NT y ST). Se utilizó un diseño factorial con tres repeticiones usando la prueba de la mínima diferencia estadística ($P < 0.05$). El screening fitoquímico reveló la presencia de fenoles tipo pirogálico y catecol. La ausencia de saponinas se observó en todas las muestras y no hubo diferencias significativas del resto de los fitoquímicos entre los extractos. Las plantas de las regiones NB y NO mostraron los más altos rendimientos de extracto en comparación con las demás muestras. Todas las regiones presentaron alta actividad antiinflamatoria, sin embargo, las muestras no tuvieron diferencias significativas. Este estudio provee bases para investigaciones futuras y posibles aplicaciones de *Thitonia tubaeformis* en las industrias farmacéutica o alimentaria.

PALABRAS CLAVE: Fitoquímicos, actividad antiinflamatoria, *Thitonia tubaeformis*.

ABSTRACT

Little is known about the applications and the identity or chemical nature of the bioactive substances and compounds from *Thitonia tubaeformis*. Therefore, the objective of this work was to analyze the presence of phenols, flavonoids, saponins, alkaloids, steroids, tannins and coumarins through chemical reactions in methanol-water extracts. Yield of extract and antiinflammatory activity were also estimated using methanolic extracts. The extracts were obtained of plants from different regions of Jalisco: North and South of La Barca (NB and SB), Ocotlán (NO and SO) and Tepatitlán (NT and ST). This experiment was designed based on a factorial design with triplicate using the least significant difference test ($P < 0.05$). The phytochemical screening revealed the presence of pyrogallol and catechol phenols. Saponins were absent in all the samples and no significant differences were

found. On the other hand, NB and NO regions showed the highest extract yields in comparison with the other samples. All regions presented high antiinflammatory activity, however, samples showed no significant differences. This study provides the basis for further investigation and possible applications of *Thitonia tubaeformis* in the pharmaceutical or food industries.

KEYWORDS: Phytochemicals, antiinflammatory activity, *Thitonia tubaeformis*.

INTRODUCCIÓN

La familia Asteraceae (Compositae) es una de las más estudiadas; sin embargo, aún se tiene insuficiente conocimiento a nivel regional o estatal en el aspecto que hay ciertas plantas silvestres que tienen sustancias con diferentes aplicaciones que faltan por descubrir, como es el caso de *Thitonia tubaeformis* (Pérez *et al.*, 2009). *Thitonia tubaeformis*, comúnmente conocida como achual, palocote y andan, es una planta robusta, nativa de México, localizada en toda la República Mexicana, que se ha llegado a propagar a otros países como Cuba, Argentina, Colombia, entre otros (Nash, 1976; Jeffrey, 2007). En Jalisco, se encuentra prácticamente en casi todo el estado (Villaseñor y Espinosa, 1998). Crece como maleza en terrenos de cultivo y en áreas perturbadas, por lo que es considerada un desecho. Algunos agricultores la utilizan como alimento para ganado y los nativos del lugar en donde crece endémicamente la emplean contra problemas gastrointestinales, como vómito o diarrea, para curar el empacho y favorecer la digestión (Gheno-Heredia *et al.*, 2011). Sin embargo, sus propiedades curativas no están aún sustentadas científicamente. Sólo algunos estudios se han realizado de esta planta y son referidos principalmente al daño que pueda causar como invasora en el crecimiento de los cultivos (Juárez y Cazón, 2003). Además, es probable que la planta pueda presentar algunas otras propiedades medicinales, que en su mayoría pueden deberse a los compuestos bioactivos que se encuentren presentes (Pérez *et al.*, 2009).

Los compuestos bioactivos, fitoquímicos o quimio-preventores, son moléculas que tienen una actividad biológica, que se traduce en beneficios para la salud. Los fenoles, flavonoides, alcaloides, taninos, esteroides y cumarinas, son ejemplos de estos compuestos. Los fenoles son antioxidantes que atrapan radicales libres, estos últimos generan enferme-

*Autor para correspondencia: Carmen Lizette Del Toro Sánchez
Correo electrónico: carmen.deltoro@cuci.udg.mx

Recibido: 1 de octubre de 2012

Aceptado: 23 de noviembre de 2012

dades crónicas como el cáncer (Narayama *et al.*, 2001; Paladino y Zuritz, 2011). Conjuntamente, los flavonoides forman parte de los compuestos fenólicos y en relación a esta planta (*Tithonia tubaeformis*), se ha identificado sólo uno de ellos (5,3.-dihidroxi-7,4.-dimetoxiflavona) (Juárez y Cazón, 2003). En general, a los flavonoides se les ha atribuido una gran diversidad de efectos terapéuticos, entre ellos la capacidad antimicrobiana y antiinflamatoria (Murphy, 1999; Narayama *et al.*, 2001). Los alcaloides son muy usados en medicina para tratar problemas mentales y calmar el dolor (Dewick, 2009). Los taninos también forman parte de los fenoles y pueden ser condensados (por destilación seca se llaman catecol) e hidrolizables (pirogálicos) (Isaza, 2007). Algunos esteroides bloquean la acción del estrógeno en la promoción de cáncer de los senos (Carretero, 2001). Las cumarinas poseen acción anticoagulante, antibacteriana, antibiótica, entre otros (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009). Por otra parte, también se encuentran las saponinas, que tienen tres propiedades distintivas que son: sabor amargo, potentes surfactantes y producen hemólisis sobre los eritrocitos. En un principio se consideraron nocivas para la salud, ya que pueden dañar los glóbulos rojos de la sangre, pero en la actualidad se ha descubierto su efecto en la disminución del nivel de colesterol en sangre; inducen la absorción de los ácidos biliares sobre la fibra dietética, con lo cual se incrementa la excreción de éstos y por consiguiente se disminuye su nivel (Carretero, 2000). Causan hemólisis aún en soluciones muy diluidas, por eso su uso es aún muy restringido.

Sin embargo, no se han identificado los componentes del extracto, ni estudios científicos con respecto a *Tithonia tubaeformis* y tampoco alguna actividad biológica, como es la antiinflamatoria. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es realizar un screening fitoquímico y determinar la capacidad antiinflamaotria de hojas de *Tithonia tubaeformis*.

METODOLOGÍA

Las muestras fueron recolectadas de forma aleatoria en el estado de Jalisco, en la parte norte y sur de los municipios de La Barca (NB y SB), Ocotlán (NO y SO) y Tepatlán (NT y ST), en los meses de junio de 2011 (60 plantas por región). Posterior a la recolección de muestras, las hojas se secaron a temperatura ambiente y protegidas de la luz durante 48 h, después, se pulverizaron (molino Chopper Plus, Sunbeam, 14131) y se almacenaron en ausencia de oxígeno a -20 °C hasta su utilización. Se realizaron extracciones para el screening fitoquímico y extracciones metanólicas para obtener el rendimiento de extracto por región y la capacidad antiinflamatoria.

Screening Fitoquímico

Para la realización del screening fitoquímico se realizó la siguiente extracción: Se pesaron 10 g de la muestra pulverizada y se agregaron 20 mL de la mezcla agua-metanol (1:10) y 20 mL de éter de petróleo en un matraz tapado y aislado de la luz. Posteriormente, fue colocado en un agitador

(Shaker Maxq2000, Barnstead/Lab-Line, SHKA 2000) a 150 rpm durante 1 h. Transcurrido ese tiempo, el sobrenadante se colocó en un embudo de separación para obtener dos fases: metanol-agua y oleosa (etérea), para la identificación de a) fenoles, b) flavonoides, c) saponinas, d) alcaloides, e) esteroides y f) cumarinas (Galindo *et al.*, 1989; García *et al.*, 2003; Alcaráz-López, 2009; García *et al.*, 2009; Sánchez *et al.*, 2010). La determinación para el ensayo de g) taninos fue directamente a partir de la muestra seca triturada (García *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2010).

a) Determinación de fenoles. A partir del extracto metanol-agua, se realizaron dos pruebas de identificación cualitativa para fenoles: una colorimétrica y la otra por cromatografía en capa fina. Para la prueba rápida colorimétrica se utilizó el método de cloruro férrico (FeCl₃) para su identificación. Un cambio de color a azul oscuro indica la presencia de fenoles o taninos pirogálicos (hidrosolubles). Si el cambio es a verde oscuro indica la presencia de fenoles o taninos de tipo catecol (flavonoides o taninos condensados). La identificación de fenoles mediante cromatografía en capa fina (TLC) se llevó a cabo utilizando placas de TLC (7 x 4 cm) (Macherey-Nagel, DC-Fertigfolien Alugram, 907189). La fase móvil utilizada fue éter de petróleo:acetato de etilo:ácido fórmico (40:60:1). Una vez corridas las placas, se llevaron bajo luz UV (UVP, UVLS-26 El series UV Lamp, P/N 95-0279-0), a las longitudes de onda de 254 y 365 nm para observar el número de compuestos fluorescentes. Posteriormente, se utilizó el agente revelador FeCl₃ al 10%. Se dejó reposar 5 min y se colocó en una parrilla eléctrica (THERMO Scientific, SP131015) a 110 °C por un lapso de 10 min. Finalmente, se obtuvo el Factor de retención (Rf = distancia solvente/distancia muestra) de cada compuesto encontrado (Alcaráz-López, 2009; García *et al.*, 2009).

b) Determinación de flavonoides. El extracto utilizado fue metanol-agua y se realizó por TLC. Las placas tuvieron las mismas características y se utilizó el mismo procedimiento que para fenoles. La fase móvil fue acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético glacial:agua (100:11:11:27). Bajo luz UV a una longitud de onda de 254 nm, se observan manchas de colores azul, verde y amarillas y a 365 nm, se observan manchas de color azul oscuro. Se utilizó quercetina como control positivo (Alcaráz-López, 2009; García *et al.*, 2009).

c) Identificación de saponinas. Se utilizó el ensayo de espuma. Se diluyó el extracto 9:1 tomando 1 mL del extracto metanol-agua, más 9 mL de H₂O destilada, colocándolo en un tubo de ensayo de vidrio con tapa (13 x 100 mm). Se agitó vigorosamente durante 30 s, preferentemente con la mano. Se dejó reposar 15 min. Si la altura de espuma es <5 mm: (-), se considera negativa, no contiene saponinas; alrededor de 5–10 mm: (+) argumenta un contenido moderado; una altura >15 mm: (+++), se le atribuye a un alto contenido de saponinas (Galindo *et al.*, 1989; García *et al.*, 2003).

d) Ensayo para alcaloides (prueba de Dragendorff). Se tomaron 3 mL de la solución de metanol-agua, adicionándole 4 gotas de amoníaco. Después de llevarlo a sequedad se adicionaron 3 gotas de ácido acético y una gota de agua destilada, concentrando la solución en una plancha eléctrica.

Se colocaron gotas de esta solución en un papel de filtro y se cubrió con gotas del reactivo de Dragendorff. Un cambio de naranja a rojo o rosado sugiere la presencia de alcaloides (Galindo *et al.*, 1989; García *et al.*, 2003).

e) Identificación de esteroides. Se utilizó la prueba de Lieberman-Buchard. Para este ensayo se partió del extracto oleoso (etéreo). Se tomó 1 mL y se colocó en un crisol. Posterior a su volatilización en campana se adicionaron 4-5 gotas de cloroformo al crisol, se mezclaron bien y se repartieron mediante goteo a 4 tubos de vidrio con tapa. Posteriormente, se agregaron 2 gotas de anhídrido acético a cada tubo. Estando todos los tubos tapados para evitar la evaporación de los solventes y bajo campana, se les agregó una gota de ácido sulfúrico con pipeta Pasteur a solo 3 de los tubos para que uno de ellos sirva como control negativo. Una coloración azul o verde = esteroides; rojo, rosado o violeta = triterpenos; amarillo pálido = esteroides o triterpenos saturados (Galindo *et al.*, 1989; García *et al.*, 2003).

f) Prueba rápida para cumarinas. A partir del extracto metanol-agua, se realizó una dilución siguiendo la proporción 9:1 de extracto:agua. Se colocaron de dicha dilución 2 mL en un tubo de vidrio con tapa, colocando una tira de papel filtro dentro del tubo previamente empapado de una solución alcalina de NaOH (0,06 g/mL). Sin tocar el extracto dentro del tubo, se tapó y se llevó a calentar en un mechero Bunsen hasta desprendimientos de vapores. Las cumarinas se acumulan en el papel filtro. Después se llevó el papel filtro bajo lámpara UV (UVP, UVLS-26 El series UV Lamp, P/N 95-0279-0), si se observan puntos fluorescentes la muestra se considera positiva (García *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2010).

g) Ensayo para taninos. Esta prueba rápida se realizó con muestra seca triturada de la planta en estudio. Se colocaron aproximadamente 0,7 g de muestra seca en un matraz de aforo. Se le añadieron 200 mL de ferrocianuro de potasio ($K_4Fe(CN)_6$) para obtener una concentración de 0,004 M, en ausencia de luz y sometidos a 100 rpm por 15 min (Shaker. Maxq2000, Barnstead/Lab-Line, SHKA2000). Transcurrido el tiempo se adicionaron 20 mL de cloruro férrico ($FeCl_3$) al 0,008 M. Si el color es verde oscuro sugiere la presencia de taninos condensados y si es azul son taninos hidrolizables (García *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2010).

Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria *in vitro*

Antes de esta prueba, se obtuvieron extractos metanólicos, pesando 7 g de muestra seca con 70 mL de metanol. Se homogenizó, se sonicó (30 min), se centrifugó (4000 rpm, 15 min, 4 °C), se filtró el sobrenadante y se concentró para obtener el rendimiento de extracto. Este extracto se utilizó para el ensayo de actividad antiinflamatoria.

Para la prueba de la actividad antiinflamatoria se utilizó la técnica espectrofotométrica de la elastasa pancreática porcina (PPE, Sigma, Type IV) de acuerdo al método modificado de Lee *et al.* (1999), Alcaráz-López (2009) y Kim *et al.* (2010). Se utilizó N-succ-(ala)-3-p-nitroanilina como

sustrato y se monitoreó la liberación de p-nitroanilina por 20 min a 25 °C. La cantidad de p-nitroanilina se determinó midiendo la absorbancia a 410 nm. Para la preparación de las muestras de extractos metanólicos de *T. tubaeformis* de las diferentes regiones, éstos se llevaron a una concentración final de 0,1255 g/mL. En la preparación del sustrato para la elastasa, se utilizó N-succinil- (Ala) 3-p-nitroanilina (PPE tipo IV, Sigma) en una concentración de 1,015 mM, disuelta en 0,1 M de Tris-HCl a pH 8. La elastasa pancreática porcina, se disolvió con buffer Tris-HCl 0,2 M (pH 8) para llegar a tener una concentración final de la enzima de 0,046 U/mL. Finalmente, el sistema de reacción se llevó a cabo adicionando en placas de 96 pozos 10 µL del extracto de cada una de las muestras, 10 µL de elastasa y 130 µL del sustrato, para tener un volumen final de reacción de 150 µL. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

La capacidad antiinflamatoria se expresó de acuerdo a la siguiente fórmula: % de Inhibición = $(1-B/A) \times 100$. Donde A se expresó en µg/mL de p-nitroanilina liberados sin inhibidor (10 µL de metanol, 10 µL de elastasa, y 130 µL del sustrato) y B µg/mL de p-nitroanilina liberados en presencia del inhibidor (sistema de reacción con extracto en lugar del metanol).

Análisis Estadístico

Se realizó un ANOVA y la prueba de LSD (mínima diferencia significativa, por sus siglas en inglés) ($P < 0,05$) utilizando el programa Statgraphics centurión XV versión 15.2.06. En el caso de la capacidad antiinflamatoria fue un diseño unifactorial, donde el factor fue la región de la planta y la variable de respuesta el % de inhibición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Screening Fitoquímico

Los resultados colorimétricos obtenidos indican la presencia (+) o ausencia (-) de los metabolitos secundarios: fenoles, saponinas, alcaloides, esteroides, taninos y cumarinas, de manera cualitativa reportados en la Tabla 1. De acuerdo a los resultados obtenidos se puede observar que existe la presencia de los metabolitos secundarios analizados en todas las regiones estudiadas, con excepción de saponinas. Sin embargo, se ha reportado que las saponinas son uno de los metabolitos secundarios encontrados en la familia Asteraceae, como lo indica Galindo *et al.* (2011) en *Tithonia diversifolia*. De forma opuesta, Srividya *et al.* (2009) no encontraron estos compuestos en plantas estudiadas en el sur de la India, coincidiendo con nuestros resultados. Estas variaciones pueden deberse quizá a las condiciones ambientales de las diferentes regiones. No obstante, dicha ausencia pudiera ser favorable, ya que se especula que las saponinas son uno de los principales tóxicos para los humanos presentes en las plantas. Según algunas investigaciones, esta sustancia puede causar irritación celular y producir hemólisis sobre los eritrocitos (siendo propiedad distintiva junto con el sabor amargo y efecto surfactante) (Carretero, 2000). Sin embargo, el efecto tóxico de las saponinas está en discusión,

Tabla 1. Interpretación colorimétrica de metabolitos secundarios de los extractos metanólicos de hoja de *T. tubaeformis*.**Table 1.** Colorimetric interpretation of secondary metabolites of methanolic extracts from leaves of *T. tubaeformis*.

Región	Fenoles	Saponinas	Alcaloides	Esteroides	Taninos	Cumarinas
SB	a	-	+	+	+	+
NB	a/b	-	+	+	+	+
SO	a	-	+	+	+	+
NO	a/b	-	+	+	+	+
ST	a/b	-	+	+	+	+
NT	a	-	+	+	+	+

a) fenoles o taninos hidrosolubles. b) fenoles o taninos tipo catecol. a/b) ambos tipos de fenoles y taninos

porque depende de la naturaleza química para determinar sus efectos farmacológicos, colaterales y tóxicos.

Por otra parte, todas las regiones estudiadas presentaron fenoles o taninos hidrosolubles, sin embargo, muestran diferencias entre las zonas sur y norte encontrándose en algunas de ellas mezclas de fenoles o taninos hidrosolubles y de tipo catecol. Esto puede deberse a las diferentes condiciones de terreno encontradas dentro de las mismas regiones. Martínez-Loperena *et al.* (2011) reportaron la presencia de taninos en estas mismas plantas en el Valle de Toluca. Por otro lado, García y Gutiérrez (2007) realizaron un estudio similar con plantas de *Tithonia tubaeformis* del estado de Querétaro, reportando la ausencia de alcaloides, caso contrario a los resultados obtenidos en nuestra investigación. Estas diferencias quizás puedan deberse a la diferencia en altitud de las regiones, que pueden variar la composición de las plantas.

En este estudio los extractos de todas las regiones analizadas presentaron esteroides o triterpenos saturados, resultados similares fueron reportados en *Tithonia divesifolia* (Bagnarello *et al.*, 2009), pero contrario a lo reportado por Omwenga *et al.* (2011) en la provincia central de Kenia. Asimismo, los resultados también fueron positivos para cumarinas en *Tithonia tubaeformis*, similar a lo reportado por Medina *et al.* (2009) pero en *Tithonia divesifolia* siendo ambas plantas de la misma familia.

La evaluación por TLC de los extractos para la determinación de fenoles y flavonoides se encuentra en la Tabla 2. En relación a los Rf encontrados, se presentan compuestos más insolubles (Rf próximo a cero) en la longitud de onda de 365 nm en la mayoría de las muestras. La longitud de onda a 264 nm revela en general la presencia de ambos compuestos (fenoles y flavonoides). A su vez, se observaron diferencias en la cantidad de estos compuestos dependiendo de la región procedente de la planta. Las regiones SO y NB muestran el menor número de fenoles, sin embargo, esta última presenta la mayor cantidad de flavonoides. Esta diferencia probablemente podría deberse, entre otros factores, a la diferente

radiación recibida por las plantas en las diversas regiones estudiadas (Bedascarrasbure *et al.*, 2004).

Tomando en cuenta que los flavonoides forman parte de una clasificación de los fenoles, lo anterior pudiera sugerir que del total de fenoles encontrados algunos de ellos podrían ser del tipo flavonoide. Aunque según Bedascarrasbure *et al.* (2004), indican que un mayor contenido de fenoles no necesariamente determina un mayor contenido de flavonoides. Sin embargo, para conocer cada compuesto se requieren otras herramientas, como cromatografía de líquidos y realizar otras investigaciones orientadas a explicar estas diferencias, ya que en *T. tubaeformis* no se han hecho estos estudios.

Capacidad Antiinflamatoria

Antes de realizar el ensayo de capacidad antiinflamatoria, se procedió a obtener previamente una extracción metanólica y con esto se pudieron calcular los rendimientos de extracto obtenidos de las plantas de las diferentes regiones (Tabla 3). Se observa que el promedio de rendimiento de extracto entre todas las regiones estudiadas fue de aproximadamente 1,22 %, siendo las regiones NB y NO quienes mejores rendimientos obtuvieron sobre el peso inicial de muestra seca en comparación con las otras regiones.

En un estudio realizado en extractos de macroalgas, las especies *Dictyota* spp. y *Sargassum* spp. presentaron rendimientos de 2,84 y 0,64 %, respectivamente (Echavarría *et al.*, 2009). En tallos de orégano se obtuvieron rendimientos de 0,30, 2,13, 10,5 y 6,7 % en extractos con hexano, acetato de etilo, metanólico y acuoso liofilizado, respectivamente (González-Güereca *et al.*, 2007). Lo anterior muestra que los rendimientos de extractos son bajos en la mayoría de las plantas y *T. tubaeformis* no fué la excepción.

Por otra parte, en extractos que utilizan mezclas pueden llegar a obtenerse rendimientos un poco más elevados. Por ejemplo, al utilizar metanol:cloroformo en *Flourensia cernua*, se llegó a tener un rendimiento de hasta 19,1 % (Guerrero *et al.*, 2007). Este incremento se debe a que

Tabla 2. Factores de retención (Rf) de fenoles y flavonoides en la cromatografía en capa fina (TLC) de los extractos metanólicos de hoja de *T. tubaeformis*.

Table 2. Retention factors (Rf) of phenols and flavonoids in thin layer chromatography (TLC) of methanolic extracts from leaves of *T. tubaeformis*.

Región	No. Compuesto	Fenoles		Flavonoides	
		Rf		Rf	
		264 nm	365 nm	264 nm	365 nm
SB	1	0,43 ± 0,01	0,51 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,50 ± 0,02
	2	0,57 ± 0,01	0,64 ± 0,03	0,57 ± 0,03	0,57 ± 0,03
	3	0,64 ± 0,02	-	-	-
	4	0,86 ± 0,02	-	-	-
NB	1	0,57 ± 0,01	0,41 ± 0,03	0,14 ± 0,02	0,43 ± 0,02
	2	0,71 ± 0,02	0,44 ± 0,02	0,43 ± 0,01	0,50 ± 0,01
	3	1,00 ± 0,01	-	0,57 ± 0,02	-
SO	1	0,61 ± 0,02	0,36 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,50 ± 0,02
	2	0,79 ± 0,03	0,57 ± 0,02	0,57 ± 0,02	0,57 ± 0,03
	3	1,00 ± 0,01	-	-	-
NO	1	0,14 ± 0,01	0,43 ± 0,02	0,43 ± 0,01	0,57 ± 0,03
	2	0,29 ± 0,01	0,57 ± 0,01	0,57 ± 0,02	-
	3	0,57 ± 0,02	-	-	-
	4	0,86 ± 0,04	-	-	-
ST	1	0,14 ± 0,02	0,43 ± 0,01	0,43 ± 0,03	0,43 ± 0,02
	2	0,43 ± 0,01	0,57 ± 0,03	0,57 ± 0,01	0,71 ± 0,03
	3	0,57 ± 0,01	-	-	-
	4	0,71 ± 0,02	-	-	-
NT	1	0,57 ± 0,03	0,14 ± 0,01	0,29 ± 0,02	0,43 ± 0,01
	2	0,79 ± 0,01	0,57 ± 0,03	0,50 ± 0,03	0,64 ± 0,02
	3	0,86 ± 0,02	-	0,57 ± 0,02	-
	4	1,00 ± 0,01	-	-	-

la mezcla utilizada contiene un solvente del tipo polar y otro medianamente polar, por lo que puede extraer ambos tipos de compuestos presentes en la planta y en consecuencia, se verá reflejado en el rendimiento obtenido. En el caso de *Thitonia tubaeformis* se utilizó metanol como solvente para la extracción debido a que los compuestos que confieren la mayor actividad biológica son polares, como los fenoles y son los compuestos que más interés tienen por las propiedades que se les atribuyen, porque éstos pueden tener una futura aplicación en las industrias farmacéutica y/o alimentaria.

Los resultados del porcentaje de inhibición a la elastasa (enzima desencadenadora de la inflamación), se pueden observar en la Figura 1. Todas las muestras presentaron actividad antiinflamatoria y ninguna de las regiones estudiadas presentó diferencia significativa.

Hasta el momento no existen reportes sobre la actividad antiinflamatoria en *Tithonia tubaeformis*, sin embargo, sobre especies de la familia a la que pertenece, que es la As-

teraceae, se ha reportado que es fuente de lactonas sesquiterpénicas con bioactividad enzimática inhibitoria a la elastasa, en las especies de *Sigesbekia orientalis* y *Mikania cordata* (Dupuy *et al.*, 2008; Shah *et al.*, 2011). Por otra parte, Gómez-Estrada *et al.* (2011) revelan que *Sylibum maritimum*, también perteneciente a la misma familia, contiene una mezcla de flavonoides bioactivos que son los responsables de la inhibición de esta enzima. Aunado a lo anterior, se ha demostrado que, compuestos fenólicos aislados de *A. catechu* inhiben la elastasa (Lee *et al.*, 2001), al igual que algunos flavonoides y triterpenos de *Cornus kousa* (Lee y Sultana, 2007). Luteolina, luteolina 7-glucósido, quercetina y el isoflavonoide genistina, son algunos de los compuestos fenólicos a los que se les atribuyen esta propiedad (Fonseca *et al.*, 2010).

Asimismo, la actividad antiinflamatoria encontrada en este estudio fue similar a la reportada en algunas plantas de diferente familia a *T. tubaeformis*, como *Garcinia indica* (Abhijit y Manjushree, 2010), *Astilbe chinensis* (Seung-Hun *et al.*,

Tabla 3. Rendimientos de extractos metanólicos de las hojas de *T. tubaeformis* de las diferentes regiones.**Table 3.** Methanolic extract yields of leaves of *T. tubaeformis* from different regions.

Muestra	Peso inicial Muestra seca (g)	Peso Extracto (g)	Rendimiento g extracto/g muestra seca	Rendimiento %
SB	7,05	0,490 ± 0,010	0,070 ± 0,002	0,990 ± 0,030 ^a
NB	7,05	0,730 ± 0,020	0,100 ± 0,004	1,410 ± 0,060 ^d
SO	7,05	0,670 ± 0,010	0,090 ± 0,002	1,270 ± 0,030 ^c
NO	7,05	0,730 ± 0,030	0,100 ± 0,006	1,410 ± 0,090 ^d
ST	7,05	0,560 ± 0,010	0,080 ± 0,002	1,140 ± 0,030 ^b
NT	7,05	0,610 ± 0,020	0,080 ± 0,004	1,140 ± 0,060 ^b

Letras diferentes indican que hay diferencia estadística significativa ($P < 0,05$).

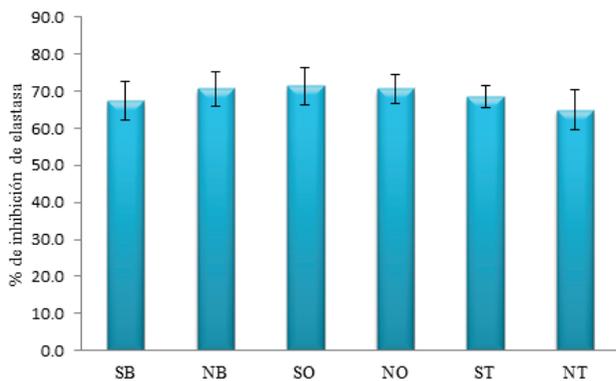


Figura 1. Porcentaje de inhibición de elastasa (antiinflamatorio) de extractos metanólicos de hoja (0,1255 g/mL) de *T. tubaeformis* de las regiones de Jalisco. Letras iguales indican que no hay diferencia estadística significativa.

Figure 1. Inhibition percentage of elastase (anti-inflammatory) of methanolic extracts of leaves (0,1255 g/mL) from *T. tubaeformis* of different regions of Jalisco. Identical letters indicate no statistically significant differences.

2009) y té blanco (Thring *et al.*, 2009). Pero mayor actividad a la encontrada en *Perilla frutescens* y *Selaginella tamariscina*, ya que ambas presentan un decremento en la inhibición a la enzima en un 7 y 23 %, respectivamente (Lee *et al.*, 1999), comparado a los resultados obtenidos en nuestro estudio.

En base a lo anterior, hoy en día es evidente que el interés por las sustancias antiinflamatorias de origen vegetal va en aumento, porque ofrecen, en algunos casos, ventajas, en relación a los antiinflamatorios clásicos, como es la baja incidencia de efectos secundarios (Gómez-Estrada *et al.*, 2011).

CONCLUSIONES

Los extractos de *Thitonia tubaeformis* tienen compuestos de importancia biológica, sin embargo, de las regiones norte, tanto de La Barca, como de Ocotlán, se puede obtener mayor cantidad de extracto. Aún así, en todas las muestras

analizadas se obtuvo buena actividad antiinflamatoria. Con la información generada en esta investigación, se obtuvo un campo nuevo de conocimiento sobre *Tithonia tubaeformis* que crece en el estado Jalisco y que dará la pauta para implementar el desarrollo de nuevas técnicas de investigación, así como la caracterización de nuevas fuentes de compuestos que proporcionen productos preventivos o terapéuticos que originen mayor economía a las personas de la región y sobre todo, que provean mejores beneficios para la salud, ya sea aplicado al sector alimenticio o farmacéutico.

REFERENCIAS

- Abhijit, S. y Manjushree, D. 2010. Anti-hyaluronidase, anti-elastase Activity of *Garcinia indica*. International Journals of Botany. 6(3): 299-303.
- Alcaráz-López, O.A. 2009. Determinación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria *in Vitro* de las plantas medicinales *Heterotheca inuloides*, *Calea urticifolia*, *Buddleia spp.* y *Sambucus spp.* usadas en el estado de Jalisco. Tesis de Maestría presentada en el Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara. Pp. 48-49.
- Ávalos-García, A. y Pérez-Urria, C.E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2(3): 119-145.
- Bagnarello, G., Hilje, L., Bagnarello, V., Cartín, V. y Calvo, M. 2009. Actividad fagocitativa de las plantas *Tithonia diversifolia* y *Montanoa hibiscifolia* (Asteraceae) sobre adultos del insecto plaga *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Revista Biológica Tropical. 57(4): 1201-1215.
- Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Alvarez, A. y Rodríguez, E. 2004. Contenido de Fenoles y Flavonoides del Propoleos Argentino. Acta Farmacéutica Bonaerense 23(3): 369-72.
- Carretero, M.E. 2000. Compuestos fenólicos: Taninos. Panorama Actual Médica. 24(235): 633-636.
- Carretero, M.E. 2001. Compuestos fenólicos: Terpenos III: Triterpenos y esteroides. Panorama Actual Médica.

- 25(240): 124-130.
- Dewick, P.M. 2009. Medicinal natural products: a biosynthetic approach 3th Edition. John Wiley and Sons.
- Dupuy, L.O., Murillo, R. y Bonilla V.J. 2008. Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Viguiera sylvatica* y *Decachaeta thieleana* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos. *RAW Revista de Biología Tropical*. 56(3): 1063-1073
- Echavarría, Z.B., Franco, S.A. y Martínez, M.A. 2009. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del caribe colombiano. *Vitae*. 16(1): 126-131.
- Fonseca, F.A, França, C.N., Póvoa, R.M. y Izar, M.C. 2010. Estatinas y accidente cerebrovascular: posibles mecanismos de acción de la protección neurovascular. *Revista de Neurología*. 51: 551- 560.
- Galindo, W.F., Rosales, M., Murgueitio, E. y Larrahondo, J.E. 1989. Sustancias antinutricionales en las hojas de guamo, nacedero y matarratón. *Livestock Research for Rural Development*. 1(1): 1-6.
- Galindo, J., González, N., Sosa, A., Ruiz, T., Torres, V., Aldana, A.I., Díaz, H., Moreira, O., Sarduy, L. y Noda, A.C. 2011. Efecto de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (Botón de oro) en la población de protozoos y metanógenos ruminales en condiciones *in vitro*. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 45(1): 33-37
- García, D.E., Ojeda, F. y Montejo, I. 2003. Evaluación de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de *Morus alba* (Linn.). I Análisis cualitativo de metabolitos secundarios. *Pastos y Forrajes*. 26: 335.
- García, C.M., P., Kim, N.B., Bich, N.T., Tillan, J.C., Romero, J.A., Dario, O.L. y Fuste, V.M. 2009. Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora Incarnata* L., *Matricaria recutita* L. y *Morinda citrifolia* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 14(2): 1-5.
- García O.D. y Gutierrez A.D. 2007. Rastreo cualitativo de alcaloides, saponinas y glicósidos cianogénicos en malezas usadas como forrajes en el estado de Querétaro Facultad de Química Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.
- Gheno-Heredia¹, Y.A., Nava-Bernal, G., Martínez-Campos, R.A. y Sánchez-Vera, E. 2011. Las plantas medicinales de la organización de parteras y médicos indígenas tradicionales de Ixhuatlancillo, Veracruz, México y su significancia cultural. *Polibotánica* 31: 199-251.
- Gómez-Estrada, H.A., González-Ruiz, K.N. y Domingo-Medina, J. 2011. Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 10(3): 182-217.
- González-Güerrecá, M.C., Soto, H.M., Kite, G. y Martínez, V.M. 2007. Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK var. *berlandieri* Schauer). *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30(1): 43- 49.
- Guerrero, R.E., Solís, G.S., Hernández, C.F., Flores, O.A., Sandoval, L.V. y Jasso, C.D. 2007. Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Flourensia cernua* D.C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.). Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 25(1): 48-53.
- Isaza, J.H. 2007. Taninos o Polifenoles Vegetales. *Scientia et Technica*. 13(33): 13-18.
- Jeffrey, C. 2007. Compositae: Introduction with key to tribes. En *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, Asterales (JW Kadereit and C. Jeffrey, eds.). Springer-Verlag, Berlin 61-87.
- Juárez, V.D. y Cazón, A.V. 2003. Autotoxicidad en *Tithonia tubaeformis* como un posible mecanismo de control a la invasión. *Ecología Austral*. 13: 133-138.
- Kim, S.J., Sancheti, S.A., Sancheti, S.S., Um, B.H., Yu, S.M. y Seo, S.Y. 2010. Effect of 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-beta-D-glucose on elastase and hyaluronidase activities and its type II collagen expression. *Acta Pol Pharm*. 67: 145-50.
- Lee, K.K., Kim, J.H., Cho, J.J. y Choi, J.D. 1999. Inhibitory effects of 150 plants extracts on elastase activity, and their anti-inflammatory effects. *International Journal of Cosmetic Science*. 21: 71-82.
- Lee, K.K., Cho, J.J., Park, E.J. y Choi, J.D. 2001. Anti-elastase and anti-hyaluroidase of phenolic substance from *Areca catechu* as a new antiageing agent. *International Journal of Cosmetic Science*. 23: 341-346.
- Lee, N.H. y Sultana, N. 2007. Antielastase and free radical scavenging activities of compounds from the stems of *Cornus kousa*. *Phytotherapy Research*. 21: 1171-1176.
- Martínez-Loperena, R., Castelán-Ortega, O.A., González-Ronquillo, M. y Estrada-Flores, J. G. 2011. Determinación de la calidad nutritiva, fermentación *in vitro* y metabolitos secundarios en arvenses y rastrojo de maíz utilizados para la alimentación del ganado lechero. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14: 525- 536.
- Medina, M.G., García, D.E., González, M.E., Cova, L.J. y Moratinos, P. 2009. Variables morfo-estructurales y de calidad de la biomasa de *Tithonia diversifolia* en la etapa inicial de crecimiento. *Zootecnia Tropical*. 27(2): 121-134.
- Murphy, C.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564-582.
- Nash, D. 1976. Flora de Guatemala. En: Fieldiana: Field Museum of Natural History. Botany. 24(XII): 323.
- Narayana, K., Reddy, R., Sripal, M., Chaluvadi, M.R. y Krishna, D.R. 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical, effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*. 33: 2-16.
- Omwenga, O.E., Mariita, R.M., Mariita, L. y Okemo, P.O. 2011. Evaluation of Methanolic Extracts of six medicinal plants used by herbal practitioners in central province-Kenya. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2(4): 867-874.

- Paladino, S.C. y Zuritz, C.A. 2011. Antioxidant grape seed (*Vitis vinifera* L.) extracts_ efficiency of different solvents on the extraction process. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 43(1): 187-199.
- Pérez, A., Montejó, I., Iglesias, J.M., López, O., Martínez, J.G., García, D.E., Millán, I. y Hernández, A. 2009. *Tithonia diversifolia* (Helms.) A. Gary, Estación Experimental de pastos y forrajes "Indio Hatuey". 32(1): 1-15.
- Sánchez, Y.G., Rondón, L.A., Hermosilla, R.E. y Almeida, M.S. 2010. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas, tallos y flores de la *Helychrysum bracteatum*. *Revista Química Viva*. 1: 40-45.
- Seung-Hun, L., Sancheti, S., Shruti, S.S. y Sung-Yum, S. 2009. Potent Antielastase and Antityrosinase Activities of *Astilbe chinensis*. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*. 4(4): 127-129.
- Shah, B.N., Seth, A.K. y Maheshwari, K.M. 2011. A Review on Medicinal Plants as a Source of Anti-inflammatory Agents. *Research Journals of Medicinal Plants* 5(2): 101-115.
- Srividya, A.R., Shalom, A., Chandrasekhar, R. y Vijayan, P. 2009. Antioxidant, antimicrobial and in vitro cytotoxicity studies of *Tithonia diversifolia* A. grey. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1: 276-279.
- Thring, T.S., Hili, P. y Naughton, D.P. 2009. Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 9: 27.
- Villaseñor, R.J. y Espinosa, G.F. 1998. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 1-52.