

Evaluación antioxidante y efecto tóxico de extracto fenólico crudo y parcialmente purificado del fruto de *Solanum elaeagnifolium* Cavanilles.

L. Hernández-Ocura¹, J. Guzmán-Ceferino², L.D. Viveros-Pérez¹, R.G. López-Ramos¹, C.A. Sierra-Rivera¹, Ll. I. López-López¹, T. Duran-Mendoza², S.Y. Silva-Belmares¹.

1 Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Investigación en Alimentos. 2 Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de los Ríos.
jgceferino@hotmail.com

RESUMEN:

Solanum elaeagnifolium Cavanilles conocida como trompillo, está distribuida en el noreste de México y en diversas partes del mundo, se le considera maleza y es hospedera de huéspedes como insectos y virus que producen enfermedades en cultivos de interés humano causando grandes pérdidas económicas y de alimento, por lo cual existen diversos trabajos e investigaciones que proponen diversas alternativas como medida para su control biológico, por otro lado esta planta se ha empleado en la elaboración de quesos y alimentación de chivos. Por lo que, se obtuvo y fraccionó un extracto crudo metanólico del fruto de *S. elaeagnifolium* para determinar si posee componentes con bioactividad. El objetivo de este estudio fue observar el efecto de la purificación parcial del extracto de *S. elaeagnifolium* sobre la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales. Las variables de estudio fueron: partición líquido-líquido. Las variables de respuesta fueron capacidad antirradical (% de captura del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)) y fenoles totales (mg/L de equivalentes de ácido gálico (EAG)). Los resultados indicaron que el fruto de *S. elaeagnifolium* posee y resulta una alternativa como fuente de obtención de fenoles, aunque con una etapa purificación no es suficiente.

Palabras clave: DPPH, Maleza, *S. elaeagnifolium*.

ABSTRACT:

Solanum elaeagnifolium Cavanilles, known as a trompillo, is distributed in northeastern Mexico and in various parts of the world. It is considered to be weed and hosts such as insects and viruses that cause disease in crops of human interest causing great economic and food losses, for which there are various works and research that propose different alternatives as a measure for their biological control, on the other hand, this plant has been used in cheese processing and goat feeding. Therefore, a crude methanolic extract of the *S. elaeagnifolium* fruit was obtained and fractionated to determine if it has components with bioactivity. The objective of this study was to observe the effect of the partial purification of the extract of *S. elaeagnifolium* on the antioxidant activity and content of total phenols. The study variables were: liquid-liquid partition. The response variables were antiradical capacity (% capture of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH)) and total phenols (mg/L gallic acid equivalents (EAG)). The results indicated that the fruit of *S. elaeagnifolium* possesses and turns out to be an alternative source of phenols, although, with one stage, purification is not enough.

Keywords: DPPH, Undergrowth, *S. elaeagnifolium*.

INTRODUCCIÓN

Solanum elaeagnifolium Cavanilles pertenece a la familia Solanaceae que es uno de los grupos mejor estudiados de plantas, en el que hay todavía muchas cuestiones sin resolver sobre las relaciones entre sus miembros (Mino, Hazama, & Machida, 2003). La quimiotaxonomía es de ayuda en la clasificación de géneros como en el caso del género *Solanum* que se caracteriza por poseer alcaloides esteroidales (Schirmer Pigatto et al., 2014). *S. elaeagnifolium* se distribuye en muchas regiones semiáridas del mundo y es una maleza debido a que: compite con los cultivos; exuda inhibidores de plantas; interfiere con las prácticas de cría de animales y la cosecha y actúa como un huésped alternativo para los insectos fitófagos y enfermedades de las plantas (Boyd et al., 1984). Y se ha usado en la alimentación de cabras (Mellado et al., 2008). Las moléculas sintetizadas por el metabolismo se llaman metabolitos y pueden ser primarios o secundarios. Los primarios incluyen carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, éstos son indispensables para mantener la vida. Los metabolitos secundarios incluyen a moléculas como pigmentos, alcaloides polifenoles y muchos más, éstos sirven como defensa a las plantas. Los polifenoles poseen en su estructura química un anillo aromático de al menos 6 carbonos unido a uno o más grupos hidroxilo. El oxígeno presente en una molécula puede dar lugar a la formación de intermediarios parcialmente reducidos, dotados de una alta reactividad llamados especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) que pueden ser radicales o no radicales, las ROS están implicadas en muchas enfermedades de humanos (Jaberian et al., 2013). Es diferente la actividad antiradical y la actividad antioxidante, la primera se refiere a la capacidad de las moléculas para reaccionar con los radicales libres (en una sola reacción de radicales libres) y la segunda se refiere a la capacidad de la molécula para inhibir el proceso de oxidación (puede ser un conjunto de reacciones diferentes). Los compuestos fenólicos son los principales agentes que pueden donar hidrógeno a los radicales libres y así romper la reacción en cadena de la oxidación que ocurren de manera natural en los seres vivos. El modelo biológico de *Artemia salina* Leach es un método que tiene las ventajas de ser rápido y reproducible, se puede emplear para evaluar extractos de plantas de los cuales se sospecha poseen actividad farmacológica, que puede manifestarse en toxicidad en este organismo (Meyer et al., 1982). El alto potencial de estos compuestos para eliminar radicales puede explicarse por sus grupos hidroxilo fenólicos. El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad antioxidante y el efecto tóxico del extracto crudo del fruto (EMCF) y del parcialmente purificado.

MATERIALES Y MÉTODOS

El fruto y un espécimen completo (hoja, tallo, flor y fruto) de *S. elaeagnifolium* fue colectado en las localidades de en las localidades de Palaú Coahuila, México en estado inmaduro y en Saltillo Coahuila, México en estado inmaduro y muy maduro (Coordenadas: 27° 54' 13.5" N 101° 24' 36.8" W, 25° 25' 55.6" N 100° 55' 42.9" W; 25° 25' 01.3" N 100° 55' 22.5" W, respectivamente).

El fruto de *S. elaeagnifolium* procedente de las diferentes localidades se sometió a los siguientes tratamientos de manera independiente, se lavó y se secó de 25-28°C (Aguilar-Santamaría et al., 2013), una vez seco se trituró. Cada extracto se obtuvo se con metanol al 10 % p/v, en agitación constante durante 2 horas a 25 °C. Los extractos obtenidos de cada repetición se filtraron dos veces, iniciando con papel filtro Whatman #4, seguido de filtro de fibra de vidrio. Se les eliminó el solvente mediante destilación a presión reducida y consecuentemente se liofilizaron. El porcentaje (%) de recuperación de los extractos obtenidos se determinó por gravimetría (McCook-Russell et al., 2012). Los extractos se conservaron a 4 °C. Los extractos se nombraron de la siguiente manera: extracto metanólico crudo del fruto inmaduro procedente de Palaú (EMCFIP), extracto metanólico crudo del fruto inmaduro procedente de Saltillo (EMCFIS) y extracto metanólico crudo del fruto maduro procedente de Saltillo (EMCFMS).

Se realizó un tamizaje fitoquímico a cada extracto (n=2), se realizaron en una placa de porcelana de 12 pozos, adicionando en cada pozo 100 µL de cada extracto a una concentración de 2,000 ppm, posteriormente se adicionaron 20 µL del reactivo identificador específico para cada prueba. Las pruebas empleadas fueron: Shinoda que determina flavonoides; Baljet que determina sesquiterpenlactonas; Dragendorff que determina alcaloides; Liebermann-Burchard que determina Triterpenos y compuestos esteroidales; Hidróxido de sodio que determina cumarinas y de lactonas; Permanganato de potasio que determina dobles enlaces y la de Cloruro férrico que determina oxhidrilos fenólicos (Domínguez, 1979; Pereira Cabrera et al., 2009).

Para evaluar la actividad tóxica se empleó el modelo de *Artemia salina* Leach mediante el método de microdilución, consistió en eclosionar los quistes de *A. salina* en una solución de agua de mar artificial a 25 °C con aireación y fuente de luz por 24 horas, para obtener los nauplios. En una placa de 96 pozos se colocaron por pozo, concentraciones de 50 a 1000 ppm de cada extracto, luego se colocaron 10 nauplios en cada pozo y se incubaron a 25 °C, se tomó la lectura de los nauplios vivos y muertos a las 24 h, además se evaluó un control positivo (dicromato de potasio) y un control negativo. A partir de los datos de los nauplios muertos se calculó el porcentaje de mortalidad (%M), mediante la siguiente fórmula: $% M = (LV * 100)/(LM + LV)$
 Dónde: LV = Larvas vivas, LM = Larvas muertas.

Se determinó el contenido total fenólico por el método de Folin-Ciocalteu (da Silva Port's et al., 2013) modificado. La cuantificación del contenido fenólico se midió por espectrofotometría UV-visible a 790 nm y los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico (EAG) por gramo de extracto seco. Todos los análisis se hicieron por quintuplicado y los datos se presentaron como media ± DS. Para la determinación de actividad antioxidante se usó la técnica de DPPH descrita por Pollyane da Sliva Port's (2013) utilizando ácido gálico como compuesto de referencia. Las lecturas se hicieron en un espectrofotómetro BioTek Synergy HTX Multi-Mode Reader a una longitud de onda de 517 nm.

Análisis estadístico. Para la interpretación de la toxicidad del extracto sobre el modelo *A. salina*, los datos del % M, de cada repetición de cada tratamiento (n=3) se analizaron por regresión lineal simple para determinar la CL₅₀, además se usaron las pruebas estadísticas la técnica de t student y de Tukey, con un valor de $p \leq 0.05$, para analizar los datos de los extractos sobre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo un porcentaje de recuperación de 6, 5 y 8.74 % de los extractos EMCFIP, EMCFIS y EMCFMS, respectivamente. Los componentes presentes en el fruto poseen un elevado momento dipolar por lo que el metanol actúa sobre los compuestos vegetales venciendo las fuerzas intermoleculares que lo mantienen unido, pero sin dar lugar a la reacción permitiendo la solvatación de los componentes para que sean extraídos (Azmir et al., 2013).

Determinación	EMCFIP	EMCFIS	EMCFMS
Flavonoides	-	-	+
Chalconas	-	-	-
Quinonas	-	-	-
Flavonas	-	-	+
Sesquiterpenlactonas	+	+	-
Alcaloides	+	+	+

Triterpenos	-	-	-
Esteroides	-	-	-
Cumarina	+	+	+
Lactona	+	+	+
Azúcares	-	-	-
Oxidrilos fenólicos	+	-	+
Insaturaciones	+	+	+
Nota: + Presencia; - Ausencia			

Se ha reportado en el fruto la presencia de flavonoides, taninos, saponinas, alcaloides, esteroides y triterpenos por reacciones coloridas y que además alguno o algunos de estos compuestos posee actividad antioxidante (Houda *et al.*, 2014).

En cuanto al efecto tóxico en el modelo de *A. salina* se encontraron las CL₅₀ de 193 ± 9 ppm, 976 ± 9 ppm y 538 ± 52 ppm para los extractos EMCFIP, EMCFIS y EMCFMS, respectivamente, encontrándose diferencia estadística significativa entre cada una de ellas. La toxicidad encontrada se considera de toxicidad moderada, mínima y baja para los extractos EMCFIP, EMCFIS y EMCFMS, respectivamente (Sanabria-Galindo *et al.*, 1997) y coincide a lo reportado por en otras especies de solanaceae con un rango de valores de CL₅₀ de 107.2 a ≥ 1000 ppm de extractos metanólicos crudos (Silva *et al.*, 2007). En cambio, resulta superior al control positivo con una CL₅₀ de 36 ± 0 ppm (González Pérez & Aportela Gilling, 2001).

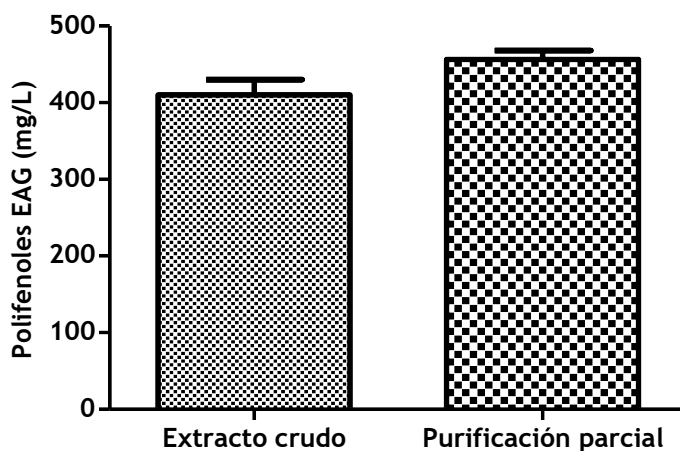


Figura 1. Contenido de polifenoles del ECM y del EFMF en equivalentes de ácido gálico (mg/L).

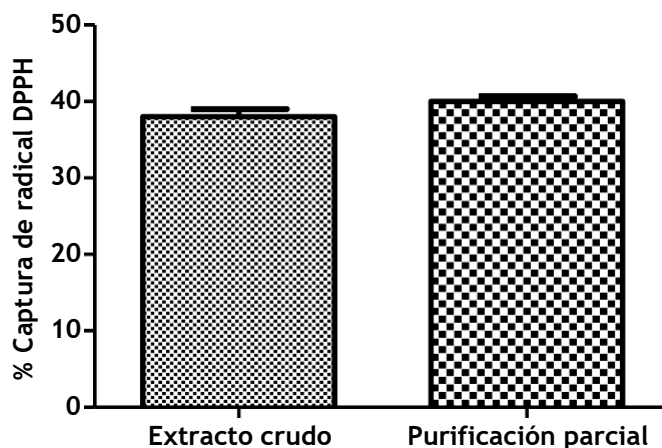


Figura 2. Actividad antioxidante del EMC y EFMF expresada en % de captura de radical DPPH.

El contenido de polifenoles en el extracto y en la purificación parcial no presentó diferencia estadística significativa por lo que la purificación no resulta conveniente si solamente se purifica una sola vez. En cuanto a la captura de radical DPPH se encontró diferencia significativa, que indica que los extractos poseen actividad de capturar radicales libres (Bontempo et al., 2013). Se ha reportado que extractos de la planta completa de *S. elaeagnifolium* al purificarse sucesivamente posee fuerte actividad antioxidante (Badawy et al., 2013).

CONCLUSIONES

El fruto de *S. elaeagnifolium* puede ser una fuente de obtención de compuestos con actividad antioxidante si se purifica sucesivamente, esta planta tiene las ventajas de no requerir condiciones especiales para su crecimiento y crece alrededor del mundo.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar-Santamaría, L., Herrera-Arellano, A., Zamilpa, A., Alonso-Cortés, D., Jiménez-Ferrer, E., Tortoriello, J. & Zúñiga-González, G. 2013. Toxicology, genotoxicity, and cytotoxicity of three extracts of *Solanum chrysotrichum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 150, 275-279.

Badawy, A., Zayed, R., Ahmed, S. & Hassanean, H. 2013. Phytochemical and pharmacological studies of *Solanum elaeagnifolium* growing in Egypt. *Journal of Natural Products*, 6, 156-167.

Bontempo, P., Carafa, V., Grassi, R., Basile, A., Tenore, G.C., Formisano, C., Rigano, D. & Altucci, L. 2013. Antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of *Solanum tuberosum* L. var. Vitelotte. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 304-312.

Boyd, J.W., Murray, D.S. & Tyrl, R.J. 1984. Silverleaf Nightshade, *Solanum elaeagnifolium*, origin, distribution, and relation to man. *Economic Botany*, 38(2), 210-217.

da Silva Port's, P., Chisté, R.C., Godoy, H.T. & Prado, M.A. 2013. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. *Food Research International*, 53(2), 875-881.

Domínguez, X.A. (1979). *Métodos de investigación fitoquímica* (1st ed.). México: LIMUSA, S. A.

- González Pérez, Y. & Aportela Gilling, P. 2001. Determinación de la toxicidad aguda del dicromato de potasio de larvas de *Artemia salina*. *Anuario Toxicología*, 1(1), 104-108.
- Houda, M., Derbré, S., Jedy, A., Tlili, N., Legault, J., Richomme, P., Limam, F. & Saidani-Tounsi, M. 2014. Combined anti-ages and antioxidant activities of different solvent extracts of *Solanum elaeagnifolium* Cav (Solanaceae) fruits during ripening and related to their phytochemical compositions. *EXCLI Journal*, 13, 1029-1042.
- Javerian, H., Piri, K., Nazari, J. 2013. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chemistry*, 136, 237-244.
- McCook-Russell, K.P., Nair, M.G., Facey, P.C. & Bowen-Forbes, C.S. 2012. Nutritional and nutraceutical comparison of Jamaican *Psidium cattleianum* (strawberry guava) and *Psidium guajava* (common guava) fruits. *Food chemistry*, 134, 1069-1073.
- Mellado, M., García, J.E., Arévalo, J.R. & Pittroff, W. 2008. Replacement value of *Solanum elaeagnifolium* for alfalfa hay offered to growing goats. *Journal of Arid Environments*, 72(11), 2034-2039.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 45 (5), 31-34.
- Pereira Cabrera, S., Vega Torres, D., Almeida Saavedra, M. & Morales Torres, G. 2009. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de *Trichilia hirta* L. *Revista Química Viva*, 8(3), 192-199.
- Sanabria-Galindo, A., López, S.I. & Gualdrón, R. 1997. Estudio fitoquímico preliminar y letalidad sobre *Artemia salina* de plantas colombianas. *Revista colombiana de ciencias químico-farmacéuticas*, 26(15-19).
- Schirmer Pigatto, A.G., Mentz, L.A. & Gonçalves Soares, G.L. 2014. Chemotaxonomic characterization and chemical similarity of tribes/genera of the Solanoideae subfamily (Solanaceae) based on occurrence of withanolides. *Biochemical Systematics and Ecology*, 54, 40-47.
- Silva, T.M.S., Nascimento, R.J.B., Batista, M.M., Agra, M.F. & Camara, C.A. 2007. Brine shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17(1), 35-38.