

**Evaluación Fitoquímica y Actividad Biológica de Extractos de
Tillandsia usneoides Recolectadas en Córdoba y Tetelzingo**
**Phytochemical Evaluation and Biological Activity of *Tillandsia usneoides*
Extracts Collected in Cordoba and Tetelzingo**
**Avaliação Fitoquímica e Atividade Biológica de Extractos de *Tillandsia*
usneoides Colhidos em Córdoba e Tetelzingo**

Alejandro Rosas, Jorge Alberto

Universidad Veracruzana

jalejandro@uv.mx

<https://orcid.org/0000-0002-1252-4966>



Cedeño-Moreira, Angel Virgilio

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

acedeno@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-6564-5569>



Herrera-Feijoo, Robinson Jasmany

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

rherrera@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0003-3205-2350>



Alvarado Mávil, Alejandra

Universidad Veracruzana

aalvarado@uv.mx

<https://orcid.org/0009-0009-3041-8997>



Factos Laiño, Karla Nicole

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

knicole1402@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-1484-2669>



Torres-Rodriguez, Juan Antonio

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

jatorres@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0003-3326-4371>



DOI / URL: <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v5/nE4/501>

Como citar:

Alejandro Rosas, J. A., Cedeño-Moreira, A. V., Herrera-Feijoo, R. J., Alvarado Mávil, A., Factos Laiño, K. N., & Torres-Rodriguez, J. A. (2024). Evaluación Fitoquímica y Actividad Biológica de Extractos de *Tillandsia usneoides* Recolectadas en Córdoba y Tetelzingo. *Código Científico Revista De Investigación*, 5(E4), 418–435.

Recibido: 11/08/2024

Aceptado: 07/09/2024

Publicado: 30/09/2024

Resumen

La identificación de compuestos bioactivos en plantas es esencial para el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos y nutracéuticos. El objetivo de esta investigación fue la caracterización fitoquímica y actividad biológica de extractos de *Tillandsia usneoides* recolectadas en Córdoba y Tetelzingo. Se realizaron pruebas fitoquímicas para identificar metabolitos secundarios presentes en los extractos. La actividad antioxidante se evaluó mediante ensayos de inhibición de radicales libres, y la citotoxicidad se determinó usando un bioensayo de letalidad en nauplios de *Artemia salina*. Los análisis fitoquímicos revelaron la presencia de alcaloides y glucósidos en el extracto etanólico de Córdoba, mientras que el extracto acuoso mostró una alta concentración de flavonoides. En Tetelzingo, el extracto etanólico presentó una alta concentración de taninos y glucósidos, y el extracto acuoso en flavonoides. La actividad antioxidante fue significativamente mayor en el extracto acuoso de Córdoba (72.09%) en comparación con el extracto etanólico (37.33%). En Tetelzingo, el extracto etanólico mostró una mayor actividad antioxidante (46.94%) que el extracto acuoso (30.04%). Los ensayos de citotoxicidad indicaron que ambos extractos presentaron una toxicidad moderada, con valores de CL_{50} superiores a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, mientras que el control positivo mostró alta toxicidad (CL_{50} de $15.58 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Palabras clave: Metabolitos secundarios, *Artemia salina*, antioxidante, citotoxicidad, glucósidos.

Abstract

The identification of bioactive compounds in plants is essential for the development of new pharmaceutical and nutraceutical products. The objective of this research was the phytochemical characterization and biological activity of extracts of *Tillandsia usneoides* collected in Córdoba and Tetelzingo. Phytochemical tests were performed to identify secondary metabolites present in the extracts. Antioxidant activity was evaluated by free radical inhibition assays, and cytotoxicity was determined using a lethality bioassay on *Artemia salina* nauplii. Phytochemical analyses revealed the presence of alkaloids and glycosides in the ethanolic extract from Cordoba, while the aqueous extract showed a high concentration of flavonoids. In Tetelzingo, the ethanolic extract showed a high concentration of tannins and glycosides, and the aqueous extract in flavonoids. The antioxidant activity was significantly higher in the aqueous extract of Cordoba (72.09%) compared to the ethanolic extract (37.33%). In Tetelzingo, the ethanolic extract showed higher antioxidant activity (46.94%) than the aqueous extract (30.04%). Cytotoxicity tests indicated that both extracts showed moderate toxicity, with LC_{50} values above $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, while the positive control showed high toxicity (LC_{50} of $15.58 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Keywords: secondary metabolites, *Artemia salina*, antioxidant, cytotoxicity, glycosides.

Resumo

A identificação de compostos bioativos nas plantas é essencial para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos e nutracêuticos. O objetivo desta investigação foi a caracterização fitoquímica e a atividade biológica de extractos de *Tillandsia usneoides* recolhidos em Córdoba e Tetelzingo. Foram realizados testes fitoquímicos para identificar os metabolitos secundários presentes nos extractos. A atividade antioxidante foi avaliada através de ensaios de inibição de radicais livres, e a citotoxicidade foi determinada através de um bioensaio de letalidade em *Artemia salina* nauplii. As análises fitoquímicas revelaram a presença de alcalóides e glicosídeos no extrato etanólico de Córdoba, enquanto o extrato aquoso apresentou uma

elevada concentración de flavonóides. Em Tetelzingo, o extrato etanólico apresentou uma elevada concentração de taninos e glicosídeos, e o extrato aquoso de flavonóides. A atividade antioxidante foi significativamente mais elevada no extrato aquoso de Córdoba (72,09%) em comparação com o extrato etanólico (37,33%). Em Tetelzingo, o extrato etanólico mostrou uma maior atividade antioxidante (46,94%) do que o extrato aquoso (30,04%). Os testes de citotoxicidade indicaram que ambos os extractos apresentaram uma toxicidade moderada, com valores de CL_{50} superiores a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto o controlo positivo apresentou uma toxicidade elevada (CL_{50} de $15,58 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Palavras-chave: Metabólitos secundários, *Artemia salina*, antioxidante, citotoxicidade, glicosídeos.

Introducción

La medicina tradicional sigue siendo un recurso medicinal significativo para muchas personas en el mundo (Yuan et al., 2016). Las plantas medicinales tienen un papel destacado en las culturas indígenas de los países en desarrollo, siendo variadas y abundantes (Ambu et al., 2020; Mishra y Kumar, 2023). En México, la medicina tradicional juega un papel crucial en la práctica médica, con una considerable proporción de la población que recurre a remedios tradicionales, los cuales incluyen una diversa variedad de plantas medicinales (Lucía et al., 2021).

A pesar de la diversidad de hierbas medicinales, el conocimiento científico disponible es muy limitado como en el caso de las bromelias (Vite-Posadas et al., 2011). Este grupo exhibe una gran diversidad de hábitats y representa la tercera familia botánica más importante de monocotiledóneas mexicanas (Pulido-Esparza et al., 2004). *Tillandsia usneoides*, pertenece a la familia de las Bromeliáceas, que comprende de 649 especies, popularmente conocida en distintas regiones de México como heno o pascle, es una planta epífita que habita de forma independiente: en el suelo, árboles, sustratos inertes e incluso en cables de líneas eléctricas (Espejo-Serna y López-Ferrari, 2018; Estrella-Parra et al., 2019). En estas especies, la falta de un sistema radicular absorbente se compensa con una estructura especializada llamada tricoma, esencial para la absorción de agua y otros nutrientes (Papini et al., 2011).

En México, *T. usneoides* se usaba en la sociedad azteca y en la época postcolombina para decorar escenas de natividad (Gardner, 1982). El género *Tillandsia* se utiliza como fertilizante orgánico en muchos países asiáticos (Zhang, 2016). Además, *T. usneoides* se usa como arreglo decorativo en edificios, como plantas ornamentales en soportes verticales, para purificación del aire en interiores y como cortinas vegetales (Monteiro et al., 2011; Wickham, 2013; López-García et al., 2023).

T. usneoides se ha utilizado como biomonitor de metales pesados y contaminantes del aire (Kim et al., 2020). En la medicina tradicional se utiliza para el tratamiento de la tos, bronquitis, reumatismo, úlceras, hemorroides, problemas menstruales, entre otros (De Fátima et al., 2008; Smith-Oka, 2008; Zamora, 2009; Hornung-Leoni, 2011; Mondragón et al., 2011). Sin embargo, en la mayoría de los casos, se ha prestado poca atención a la validación experimental de sus propiedades medicinales. También, se ha utilizado tradicionalmente en el control de la diabetes (Miranda-Nuñez et al., 2021) y como anticancerígeno (Lasso et al., 2022).

Los compuestos de las plantas del género *Tillandsia* han sido extraídos mayormente de extractos orgánicos, especialmente alcohólicos (metanol y etanol), aunque también se han empleado solventes como acetona, cloroformo, hexano y benceno. Además, algunos extractos han sido investigados utilizando fluido supercrítico de CO₂, mientras que los compuestos presentes en extractos acuosos han recibido menos atención (Estrella-Parra et al., 2019).

Los principales compuestos en el género *Tillandsia* son flavonoides, triterpenoides, ácidos cinámicos, también han sido reportados alcaloides, cumarinas y glucósidos (Vasconcelos et al., 2013; Lowe et al., 2014; Estrella-Parra et al., 2019). Estos compuestos han demostrado actividades biológicas como agente hipoglucémico, antitumoral, antimicrobiana, antiinflamatoria, antivirulencia y antialérgicas (Vite-Posadas et al., 2011; Espejo-Serna y López-Ferrari, 2018; Lasso et al., 2022). Sin embargo, solo alrededor del 10% de las especies de *Tillandsia* han sido exploradas, lo que resalta su prometedor futuro en investigación debido a su relevancia cultural, económica y farmacológica, con un potencial significativo en muchos aspectos esenciales de la sociedad (Estrella-Parra et al., 2019).

Metodología

Recolección de planta

La planta de *T. usneoides* se recolectó en dos zonas diferentes dentro del estado de Veracruz (Córdoba y Tetelzingo). Las plantas fueron transportadas y envueltas en papel estraza al Laboratorio de Biotecnología donde se procedió al fraccionamiento de la planta con ayuda de unas tijeras esterilizadas, para su posterior secado. Se realizó el secado por 7 días en placas de plástico cubiertas con malla para evitar la contaminación con agentes externos, posteriormente se realizó el pesaje donde se obtuvieron 350 g de material seco respectivamente. Que fueron divididas en porciones semejantes para dos extractos.

Preparación de extractos

La planta *T. usneoides* fueron lavadas y luego secadas a temperatura ambiente. El material vegetal se homogeneizó en un mortero y luego se tamizó utilizando un tamiz de 3.2 mm. Para obtener extractos acuosos y etílicos al 2% (m/v), se mezclaron 2 g de material vegetal con 100 mL de agua bidestilada (DDW) o 100 mL de alcohol etílico (96%), respectivamente. El extracto acuoso se calentó hasta ebullición durante 10 minutos, se filtró con discos de papel de filtro cualitativo (Munktell, grado 388) y luego se concentró mediante liofilización durante una semana (liofilizador, LABCONCO). El extracto etílico se percoló continuamente en caliente durante 72 horas utilizando un aparato Soxhlet, se filtró con discos de papel de filtro cualitativo y luego se concentró a presión reducida en un evaporador rotatorio (Buchi, RE111). Los extractos se almacenaron en frascos ámbar a 4 °C hasta su uso.

Pruebas Fitoquímicas preliminares

Alcaloides

Se tomó una porción del extracto y se adicionó 0.3 mL de ácido clorhídrico al 10%. Se calentó en baño maría por diez minutos, se enfrió y se filtró. Se adicionó una gota del reactivo de Wagner, la formación de una coloración roja a naranja, blanco a crema y marrón se considera positiva la prueba.

Flavonoides

Se añadieron 3 gotas de hidróxido de sodio al 10% al extracto. La formación de una coloración amarilla a roja indica la presencia de xantonas y flavonas. La coloración café a naranja sugiere la presencia de flavonoles, mientras que una coloración púrpura a rojiza indica la presencia de chalconas. Finalmente, una coloración azul sugiere la presencia de antocianinas.

Taninos

Se evaporó 0.5 mL del extracto de la planta y se disolvió el residuo en 1.5 mL de agua destilada. Se tomó 0.5 mL de extracto obtenido y se adicionó 2 a 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10%. La coloración azul indicó la presencia de taninos hidrolizables y la coloración verde la presencia de taninos condensados.

Saponinas

Se evaporó 1 mL del extracto de la planta y se disolvió en agua hirviendo. Posteriormente se dejó reposar por 15 min. Se clasificó la presencia de saponinas por la altura y formación de la espuma.

Si la espuma es <5 mm: (-), se consideró negativa, no contiene saponinas.

Alrededor de 5-10 mm: (+) un contenido bajo de saponinas.

Alrededor de 10-15 mm: (++) un contenido moderado de saponinas.

Una altura >15 mm: (+++), un alto contenido de saponinas.

Cumarinas

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL del extracto de la planta, se tapó con papel filtro (previamente impregnado con solución diluida de Hidróxido de Sodio), se llevó a baño maría a 100 °C durante 5 minutos. El papel filtro se secó y se examinó bajo la luz UV. La presencia de fluorescencia amarilla indicó la presencia de cumarinas.

Triterpenos y/o esteroides

Se secó 0.5 mL del extracto y se adicionó 0.5 mL de cloroformo. Se dividió en dos tubos de ensayo. En la primera prueba se realizó la reacción de Liebermann–Burchard, la coloración azul-violeta y finalmente verde indicó positivo. También, se determinó la reacción de Salkowski, en este caso la solución debe tornarse roja indicando la presencia de los compuestos esteroidales.

Glucósidos

A 0.5 mL del extracto de la planta se adicionó 0.25 mL de solución de acetato de plomo al 10% y 0.25 mL de agua destilada. Se calentó la mezcla en baño maría durante 10 minutos. Se agitó el filtrado con 1 mL de CHCl₃. Se separó la capa clorofórmica en tubos de ensayo y se llevó a sequedad. Se adicionó 4 gotas de los siguientes reactivos para sus respectivas reacciones:

- Tubo 1: Reacción de Baljet. Una coloración roja, naranja-rojiza o violeta con cardenòlidos.
- Tubo 2: Reacción de Raymond-Marthoud. Anillo lactónico de los cardenòlidos. Coloración roja, naranja-rojiza o violeta con cardenòlidos.
- Tubo 3: Reacción de Keller-Killani. Una gota de ácido acético glacial, una gota de cloruro férrico al 10% y una gota de reactivo de Salkowski. Coloraciones intensas de color marrón.
- Tubo 4: Reacción de Liebermann-Burchard. La coloración verde o azul verdoso indicó positivo para la prueba.
- Tubo 5: Reacción de Salkowski (núcleo esteroideal). Coloración amarilla-rojo sangre.

Derivados antracénicos

En un tubo eppendorf se colocaron 0.5 mL de extracto de la planta y se adiciono 0.5 mL de cloroformo, se agito y se dejó por 15 minutos en reposo. Se extrajo la fase clorofórmica

y se colocó en tubo eppendorf limpio. Se determinó la reacción de Borntraeger: en un tubo eppendorf se adicionó 0.5 mL de solución de hidróxido de sodio al 5% en agua. Una coloración rojiza en la fase acuosa, indicó la presencia de antraquinonas.

Actividad antioxidante

Se realizó mediante el método de del radical estable del 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) (Brand-Williams et al., 1995). Se calibró el espectrofotómetro con metanol al 80% a una longitud de onda de 750 nm, posteriormente se preparó el reactivo DPPH para el cual se pesó 0.0020 g de reactivo DPPH y se aforo a 100 mL con metanol al 80%, se colocó el reactivo en una celda para espectrofotómetro para medir su absorbancia a 517 nm. Las muestras de prueba se prepararon mezclando cada extracto de *T. usneoides* (10 µL) y solución de DPPH (190 µL), se mezclaron y luego se incubaron en la oscuridad a 37 °C durante 20 minutos. Todas las pruebas se realizaron por triplicado. La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición, la cual corresponderá a la cantidad de radical DPPH neutralizado por la muestra a una determinada concentración, de acuerdo con la siguiente ecuación: % Inhibición = $(A - A1/A) * 100$; Dónde: A = absorbancia del control y A1 = absorbancia de la muestra.

Bioensayo de citotoxicidad

Para evaluar la citotoxicidad de los extractos EE y EA de Córdoba y Tetelzingo, se realizó un bioensayo de letalidad utilizando nauplios de *Artemia salina*, siguiendo el método descrito por Krishnaraju et al. (2005). Los huevos de *A. salina* fueron incubados en un matraz cónico de 1 L que contenía agua de mar estéril (38 g L⁻¹, pH a 8,5) y se mantuvieron en condiciones de aireación constante. Después de 24 horas, se añadió al matraz cónico una solución de levadura al 0.06% (15 mL) para alimentar a las larvas. Transcurridas 48 horas desde la incubación de los huevos, se recolectaron, contaron y seleccionaron nauplios activos, libres de cáscaras de huevo, que luego se transfirieron a viales que contenían 4.5 mL de solución salina. Posteriormente, los nauplios fueron expuestos a diferentes concentraciones (1-5000 µg mL⁻¹) de los extractos de plantas durante 24 horas, realizándose el experimento en triplicado para cada dosis. Finalmente, se contó el número de larvas supervivientes. La letalidad (%) se calculó comparando el promedio de nauplios sobrevivientes en los tratamientos con los de los tubos de control. Los valores de CL₅₀ (Concentración letal para matar el 50% de las *A. salina*) se derivaron a partir de la línea de mejor ajuste entre la concentración del extracto y el porcentaje de mortalidad. En el bioensayo, se empleó dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) como control positivo y agua de mar estéril como control negativo.

Análisis estadístico

Para la actividad antioxidante, se midieron las absorbancias de los extractos y se calculó el porcentaje de inhibición, expresando los datos como media \pm desviación estándar (DE). Se empleó una prueba t de Student para muestras independientes con el fin de determinar si las diferencias en la actividad antioxidante entre los extractos acuoso y etanólico eran estadísticamente significativas, considerando significativos los valores de $p < 0.05$. Los resultados de las determinaciones de citotoxicidad se expresan como medias y desviaciones estándar de tres réplicas. Cuando fue necesario, los resultados se compararon mediante un análisis de varianza (ANOVA) con el software STATISTICA (StatSoft 10.0; Tulsa, Ok, EE. UU.). Para comparar medias se utilizó la prueba de diferencia significativa de Tukey ($p \leq 0,05$). Antes de realizar el análisis de varianza, se verificó la normalidad de los datos a través de la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Bartlett.

Resultados

Determinación de metabolitos secundarios

Los resultados de las pruebas fitoquímicas de los extractos acuoso (EA) y etanólico (EE) de la planta recolectada en Córdoba mostraron la presencia en el extracto etanólico (EE) de alcaloides (++) y glucósidos (+), ausentes en el extracto acuoso (EA), lo que indica una mayor solubilidad de estos compuestos en etanol. Los flavonoides fueron abundantes (+++) en el extracto acuoso, sugiriendo que son más solubles en agua, mientras que los taninos estuvieron presentes en alta concentración (+++) en el extracto etanólico. Las cumarinas y saponinas también se encontraron únicamente en el extracto etanólico, subrayando la capacidad del etanol para extraer estos compuestos.

Las reacciones de Raymond y Liebermann-Burchard fueron positivas en ambos extractos, aunque más intensas en el etanólico, indicando la presencia de alcaloides, esteroides y triterpenos en mayores concentraciones en este solvente. Los derivados antracénicos no se detectaron en ninguno de los extractos (Tabla 1).

Tabla 1.

Resultados de las pruebas fitoquímicas de ambos extractos de la planta recolectada en Córdoba.

Metabolito	Prueba	EA	EE
Alcaloides	Wagner	-	++
Flavonoides	NaOH	+++	-
Taninos	FeCl ₃	-	+++
Cumarinas	NaOH	-	+
Glucósidos	Baljet	-	+
	Raymond-Marthoud	++	+++
	Keller-Kiliani	-	-
	Liebermann-Burchard	+	+
	Salkowsky	-	-
Saponinas	Reacción de Espuma	-	++
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	-	+++
	Salkowski	-	-
Derivados Antracénicos	Borntraeger	-	-

Nota: + baja presencia del metabolito; ++ moderada presencia del metabolito; +++ alta presencia del metabolito y (-) ausencia del metabolito.

Los resultados de las pruebas fitoquímicas realizadas en los extractos acuoso (EA) y etanólico (EE) de la planta recolectada en Tetelzingo revelan la presencia de metabolitos secundarios. Los alcaloides se detectaron en baja concentración en ambos extractos, sugiriendo una solubilidad similar en agua y etanol. Los flavonoides fueron abundantes en el extracto acuoso y ausentes en el etanólico, indicando su alta solubilidad en agua. En contraste, los taninos se encontraron en alta concentración en el extracto etanólico y estuvieron ausentes en el acuoso, lo que refleja su afinidad por el etanol. Las cumarinas, glucósidos, saponinas y triterpenos/esteroides también mostraron una mayor presencia en el extracto etanólico, destacando la eficacia del etanol en la extracción de estos compuestos. Las pruebas específicas como la reacción de Raymond-Marthoud fueron positivas en ambos extractos, mientras que las pruebas de Keller-Kiliani y Liebermann-Burchard mostraron resultados positivos solo en el extracto etanólico (Tabla 2).

Tabla 2.

Resultados de las pruebas fitoquímicas de ambos extractos de la planta recolectada en Tetelzingo.

Metabolito	Prueba	EA	EE
Alcaloides	Wagner	+	+
Flavonoides	NaOH	+++	-
Taninos	FeCl ₃	-	++++
Cumarinas	NaOH	-	++
Glucósidos	Baljet	++	+++
	Raymond-		
	Marthoud	+	+
	Keller-Kiliani	-	+
	Liebermann-		
	Burchard	-	-
	Salkowsky	-	-
Saponinas	Reacción de Espuma	-	++
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	-	++
	Salkowski	-	-
	Borntraeger	-	-

Nota: EA: Extracto acuoso; EE: Extracto etanólico; + baja presencia del metabolito; ++ moderada presencia del metabolito; +++ alta presencia del metabolito y (-) ausencia del metabolito.

Evaluación de la actividad antioxidante

En la tabla 3 se presentan los resultados de la actividad antioxidante y el porcentaje de inhibición de los extractos etanólico (EE) y acuoso (EA) de Córdoba. El extracto acuoso mostró una media de absorbancia de 0.271 y un porcentaje de inhibición del 72.09%, indicando una alta capacidad antioxidante. En contraste, el extracto etanólico tuvo una media de absorbancia de 0.463 y un porcentaje de inhibición del 37.33%. El p-valor obtenido (0.0002) indica que hay una diferencia estadísticamente significativa en la actividad antioxidante entre el EE y el extracto acuoso EA. El máximo resultado se obtuvo con el EA (72.09%) en comparación con el EE (37.33%), lo que sugiere que el extracto acuoso tiene una mayor capacidad antioxidante.

Tabla 3.*Actividad antioxidante y % de inhibición de extractos etanólico y acuoso Córdoba*

Tipo de extracto	Abs. del control nm	Media de Abs. nm	% de inhibición
EE	0.742	0.463	37.33 ±2.16
EA	0.709	0.271	72.09 ±1.54

Nota: EA: Extracto acuoso; EE: Extracto etanólico

La media de absorbancia en el extracto etanólico (EE) y acuoso (EA) de Tetelzingo es de 0.373 y 0.496 nm siendo menor que la absorbancia del control (0.703 y 0.709 nm) respectivamente, mostrando una fuerte actividad antioxidante. El (EE) mostró una media de inhibición significativamente mayor (47.37%) en comparación con el (EA), que tuvo una media de inhibición del 30.09%. La prueba t de Student indicó que esta diferencia es estadísticamente significativa (p-valor = 0.0000537). Por lo tanto, el (EE) tiene una actividad antioxidante significativamente mayor (Tabla 4).

Tabla 4.*Actividad antioxidante y % de inhibición de extractos etanólico y acuoso de Tetelzingo*

Tipo de extracto	Abs. Control (nm)	Media de Abs. (nm)	% de inhibición
EE	0.703	0.373	46.94 ±1.43
EA	0.709	0.496	30.04 ± 0.82

Nota: EA: Extracto acuoso; EE: Extracto etanólico

Bioensayo de citotoxicidad en *A. salina*

En el ensayo de toxicidad, se evaluaron los valores de CL₅₀ para los extractos etanólico (EE) y acuoso (EA) de Córdoba y Tetelzingo. Los resultados indican que el EE de Córdoba tiene un CL₅₀ de 256.08 µg mL⁻¹, mientras que el de Tetelzingo es de 215.38 µg mL⁻¹. Para los EA, el CL₅₀ de Córdoba fue de 349.54 y el de Tetelzingo es 352.52 µg mL⁻¹. Tanto el extracto EE y EA de los dos sitios mostraron una moderada toxicidad con CL₅₀ superior a 100 µg mL⁻¹. El control positivo, utilizando dicromato de potasio, mostraron alta toxicidad con un CL₅₀ de 15.58 µg mL⁻¹, considerado como altamente tóxico una CL₅₀ inferior a 100 µg mL⁻¹, mientras que los controles negativos con agua de mar estéril no presentaron mortalidad. Las diferencias significativas en los valores de CL₅₀ entre los extractos sugieren variaciones en la toxicidad según la región de origen y el método de extracción.

Tabla 5.

Resultado del ensayo de toxicidad del extracto de Córdoba y Tetelzingo

Tipo de extracto	Córdoba	Tetelzingo
	CL ₅₀ (µg mL ⁻¹)	
EE	256.08 ± 7.56 b	215.38 ± 6.26 b
EA	349.54 ± 4.32 a	352.52 ± 9.25 a
Control (+)	15.58 ± 1.34 c	15.58 ± 1.34 c
Control (-)	-----	-----

Nota: CL₅₀: Concentración letal para matar el 50% de las artemias. CL₅₀ < 100 µg mL⁻¹ significa altamente tóxico. ± Desviación estándar. Letras diferentes significan diferencia significativa (Tukey p ≤ 0.05).

Discusión

Los resultados obtenidos de las pruebas fitoquímicas revelan diferencias en la composición de metabolitos secundarios entre los extractos acuoso (EA) y etanólico (EE) de las plantas recolectadas en Córdoba y Tetelzingo. En ambos sitios, se observa una tendencia similar en la solubilidad de ciertos compuestos, lo que refleja la influencia del solvente utilizado en el proceso de extracción. En ambos sitios, el extracto etanólico mostró mayor presencia de metabolitos, destacando la eficacia del etanol para extraer estos compuestos.

La presencia de alcaloides en las plantas es crucial debido a sus múltiples propiedades farmacológicas y su papel en la defensa natural contra herbívoros y patógenos. Estos compuestos han sido utilizados históricamente en la medicina tradicional y continúan siendo objeto de investigación científica por su potencial terapéutico y diversidad estructural (Gutiérrez-Grijalva et al., 2020). Los estudios sobre alcaloides pueden conducir al desarrollo de nuevos medicamentos, resaltando su importancia tanto en la ecología vegetal como en la farmacología moderna.

La reacción para flavonoides y taninos indica la presencia de compuestos fenólicos lo que confirma una gran variedad de propiedades biológicas, como antitóxicas, antitumorales, antivirales, antimicrobianas, antiinflamatorias, antibacterianas, antialérgicas, fungicidas e insecticidas, entre otras (Tungmunnithum et al., 2018).

Se obtuvieron resultados positivos en la prueba de cumarinas para el extracto etanólico. El estudio de las cumarinas es crucial debido a sus múltiples propiedades farmacológicas, incluyendo efectos antiinflamatorios, anticancerígenas, antimicrobianos, antitumorales y

antioxidantes (Srikrishna et al., 2018). El estudio de este metabolito es de interés actual gracias a su accesibilidad sintética y riqueza en plantas medicinales (Sharifi-Rad et al., 2021).

Los resultados de las pruebas fitoquímicas en los EA y EE de plantas recolectadas en Córdoba y Tetelzingo revelaron que los glucósidos tienen una mayor afinidad por el etanol, siendo detectados en concentraciones moderadas a altas en los extractos etanólicos pero ausentes o presentes en baja concentración en los extractos acuosos. Esto se evidenció a través de diversas pruebas como Baljet, Raymond-Marthoud y Liebermann-Burchard. Los glucósidos cardíacos son compuestos esteroides naturales que se encuentran tanto en plantas como en animales. Se conocen desde hace mucho tiempo como agentes cardiotónicos comúnmente utilizados para diversas enfermedades cardíacas debido a la inhibición de la actividad de bombeo de $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{-ATPasa}$ (NKA) y a la modulación de la contractilidad del músculo cardíaco, además, son agentes anticancerígenos (Škubník et al., 2021).

Se obtuvieron resultados positivos para las saponinas, presentando un contenido moderado de este metabolito. Las saponinas son metabolitos secundarios sintetizados por muchas especies de plantas y animales marinos. Tienen muchos usos médicos, incluyendo actividades antimicrobianas, antitumorales, antiinsectos, hepatoprotectoras, hemolíticas y antiinflamatorias. También disminuyen el nivel de colesterol en la sangre y pueden usarse como adyuvantes en vacunas. Además, las saponinas se utilizan en la preparación de jabones, detergentes, extintores de incendios, champús, cerveza y cosméticos (Barbosa, 2014).

La prueba de triterpenoides con el reactivo de Liebermann-Burchard marcó bastante positivo (+++) con el extracto etílico. Este metabolito sólo se encontró en el EE, lo que puede indicar que tiene una mayor afinidad por el alcohol. Estos compuestos naturales tienen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, anticancerígenas, antioxidantes y hepatoprotectoras (Cháirez-Ramírez et al., 2016; Gill et al., 2016). Además, se ha demostrado que pueden inhibir las enzimas implicadas en el metabolismo de la glucosa, prevenir el desarrollo de resistencia a la insulina y normalizar los niveles plasmáticos de glucosa e insulina (Nazaruk y Borzym-Kluczyk, 2015).

Los derivados antracénicos son de gran importancia debido a sus propiedades farmacológicas y aplicaciones industriales. En el ámbito médico, estos compuestos se destacan por sus efectos anticancerígenos, antimicrobianos y antiinflamatorios (Ramachandhiran et al., 2019; Dardeer et al., 2020; Okon et al., 2023). En particular, algunos derivados antracénicos se utilizan como agentes quimioterapéuticos en el tratamiento del cáncer, gracias a su capacidad para inhibir la proliferación de células malignas. Además, en la industria, los

derivados antracénicos son utilizados en la producción de colorantes, pigmentos y otros materiales químicos (Reddy et al., 2018; Haggag et al., 2019).

Estas diferencias en la actividad antioxidante entre los extractos de Córdoba y Tetelzingo pueden deberse a variaciones en la composición fitoquímica de las plantas originarias de cada región, influenciadas por factores ambientales y ecológicos. Además, el tipo de solvente utilizado para la extracción juega un papel crucial en la eficacia de la extracción de compuestos antioxidantes específicos. La actividad antioxidante de los extractos de flores se midió mediante el método DPPH. El relativamente estable radical libre DPPH centrado en nitrógeno se usa ubicuamente para medir la capacidad de eliminación de diferentes fitoquímicos, extractos o aceites esenciales y sus efectos antioxidantes sobre el radical DPPH dependen de su capacidad de donación de hidrógeno (Dastmalchi et al., 2007).

La importancia de los antioxidantes radica en su capacidad para neutralizar los radicales libres y proteger las células del daño oxidativo, lo cual es crucial para la prevención de enfermedades crónicas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y las enfermedades neurodegenerativas (Shebis et al., 2013). La evaluación comparativa de la capacidad antioxidante de los extractos es fundamental para identificar las mejores fuentes de antioxidantes naturales.

El ensayo de letalidad en *Artemia salina* es muy útil para evaluar la bioactividad de los extractos de plantas, demostrando ser un sistema conveniente para monitorear las actividades biológicas de varias especies de plantas que se utilizan en la medicina tradicional (Krishnaraju et al., 2005; Yadav y Mohite, 2020). La evaluación de la toxicidad a través del ensayo de CL₅₀ para los EE y EA de las plantas recolectadas en Córdoba y Tetelzingo ofrece información crucial sobre la seguridad y el potencial uso terapéutico de estos extractos. Los valores de CL₅₀ obtenidos indican que ambos extractos, tanto EE como EA, presentan una moderada toxicidad, con valores superiores a 100 µg mL⁻¹, lo que los clasifica como moderadamente tóxicos en comparación con el control positivo de dicromato de potasio, que mostró una alta toxicidad con un CL₅₀ de 15.58 µg mL⁻¹ (Yadav y Mohite, 2020).

Conclusión

Los extractos etanólico (EE) y acuoso (EA) de las plantas recolectadas en Córdoba y Tetelzingo presentan diferencias significativas en la composición de metabolitos secundarios. Los extractos etanólicos mostraron una mayor presencia de alcaloides, glucósidos, taninos,

cumarinas, saponinas y triterpenos/esteroides, destacando la eficacia del etanol como solvente para extraer estos compuestos. Los flavonoides fueron más abundantes en los extractos acuosos, indicando su mayor solubilidad en agua.

La actividad antioxidante varió según el tipo de extracto y la región de origen. En Córdoba, el EA mostró una mayor capacidad antioxidante, mientras que en Tetelzingo, el EE presentó una actividad antioxidante superior. Estas diferencias pueden atribuirse a la variabilidad en la composición fitoquímica influenciada por factores ambientales y el tipo de solvente utilizado.

Los ensayos de toxicidad con *Artemia salina* revelaron que tanto los EE como los EA de las plantas de ambas regiones presentan una moderada toxicidad, con valores de CL_{50} superiores a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Esta moderada toxicidad sugiere que, con una dosificación adecuada, estos extractos podrían ser seguros para su uso en aplicaciones terapéuticas.

Referencias bibliográficas

- Ambu, G., Chaudhary, R. P., Mariotti, M., y Cornara, L. (2020). Traditional uses of medicinal plants by ethnic people in the Kavrepalanchok district, Central Nepal. *Plants*, 9(6), 759. <https://doi.org/10.3390/plants9060759>
- Barbosa, A. D. P. (2014). An overview on the biological and pharmacological activities of saponins. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(8), 47-50.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., y Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Caicedo-Aldaz, J. C., & Herrera-Sánchez, D. J. (2022). El Rol de la Agroecología en el Desarrollo Rural Sostenible en Ecuador. *Revista Científica Zambos*, 1(2), 1-16. <https://doi.org/10.69484/rcz/v1/n2/24>
- Cháirez-Ramírez, M. H., Moreno-Jiménez, M. R., González-Laredo, R. F., Gallegos-Infante, J. A., y Rocha-Guzmán, N. E. (2016). Lupane-type triterpenes and their anti-cancer activities against most common malignant tumors: A review. *EXCLI journal*, 15, 758. <https://doi.org/10.17179%2Fexcli2016-642>
- Dardeer, H. M., Taha, A. G., y Elamary, R. B. (2020). Synthesis, characterization, and antimicrobial evaluation of some novel anthracene heterocycles derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(11), 3951-3960. <https://doi.org/10.1002/jhet.4104>
- Dastmalchi, K., Dorman, H. D., Koşar, M., y Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), 239-248. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.019>

- De Fátima, M., Nurit, K., Ionaldo Diniz, I. J. L. B., Franca de Freitas, P., y Barbosa-Filho, J. M. (2008). Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Revista brasileira de farmacognosia*, 18, 472-508. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300023>
- Espejo-Serna, A., y López-Ferrari, A. R. (2018). La familia Bromeliaceae en México. *Botanical Sciences*, 96(3), 533-554. <https://doi.org/10.17129/botsci.1918>
- Estrella-Parra, E., Flores-Cruz, M., Blancas-Flores, G., Koch, S. D., y Alarcón-Aguilar, F. J. (2019). The *Tillandsia* genus: history, uses, chemistry, and biological activity. *Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 18(3), 239-264.
- Gardner, S. (1982). Tillandsias at Christmas in Mexico. *Journal-Bromeliad Society (USA)*, 32(6), 1-15.
- Gill, B. S., Kumar, S., y Navgeet. (2016). Triterpenes in cancer: significance and their influence. *Molecular biology reports*, 43, 881-896. <https://doi.org/10.1007/s11033-016-4032-9>
- Guamán-Rivera, S. A. (2022). Desarrollo de Políticas Agrarias y su Influencia en los Pequeños Agricultores Ecuatorianos. *Revista Científica Zambos*, 1(3), 15-28. <https://doi.org/10.69484/rcz/v1/n3/30>
- Guamán-Rivera, S. A., & Flores-Mancheno, C. I. (2023). Seguridad Alimentaria y Producción Agrícola Sostenible en Ecuador. *Revista Científica Zambos*, 2(1), 1-20. <https://doi.org/10.69484/rcz/v2/n1/35>
- Gutiérrez-Grijalva, E. P., López-Martínez, L. X., Contreras-Angulo, L. A., Elizalde-Romero, C. A., y Heredia, J. B. (2020). Plant alkaloids: Structures and bioactive properties. *Plant-derived bioactives: chemistry and mode of action*, 85-117. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2361-8_5
- Haggag, K., Elshemy, N., Hashem, A., y Mohamed, Z. (2019). Novel synthesis of unsaturated pigment anthracene triazole acrylate via click chemistry to prepare colored binder for textile printing. *Egyptian Journal of Chemistry*, 62(2), 325-332. <https://dx.doi.org/10.21608/ejchem.2018.4057.1356>
- Hornung-Leoni, C. T. (2011). Avances sobre usos etnobotánicos de las Bromeliaceae en Latinoamérica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas Medicinales y Aromaticas*, 10(4), 297-314.
- Kim, J. J., Park, J., Jung, S. Y., y Lee, S. J. (2020). Effect of trichome structure of *Tillandsia usneoides* on deposition of particulate matter under flow conditions. *Journal of hazardous materials*, 393, 122401. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122401>
- Krishnaraju, A. V., Rao, T. V., Sundararaju, D., Vanisree, M., Tsay, H. S., y Subbaraju, G. V. (2005). Assessment of bioactivity of Indian medicinal plants using brine shrimp (*Artemia salina*) lethality assay. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3(2), 125-134. [https://doi.org/10.6703/IJASE.2005.3\(2\).125](https://doi.org/10.6703/IJASE.2005.3(2).125)
- Lasso, P., Rojas, L., Arévalo, C., Urueña, C., Murillo, N., Barreto, A., ... y Fiorentino, S. (2022). *Tillandsia usneoides* extract decreases the primary tumor in a murine breast cancer model but not in melanoma. *Cancers*, 14(21), 5383. <https://doi.org/10.3390/cancers14215383>

- López-García, R., Muro-Pérez, G., López-Santiago, M. A., y Sánchez-Salas, J. (2023). Estudio etnobotánico de las bromelias útiles (Bromeliaceae) en el Valle de Juchipila, Zacatecas, México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 10(2). <https://doi.org/10.19136/era.a10n2.3420>
- Lowe, H. I., Toyang, N. J., Watson, C. T., Ayeah, K. N., y Bryant, J. (2014). Antileukemic activity of *Tillandsia recurvata* and some of its cycloartanes. *Anticancer research*, 34(7), 3505-3509.
- Lucía, C. P. A., Jacqueline, B. R., Alberto, B. R. L., David, B. A., y Beatriz, R. A. (2021). Actualized inventory of medicinal plants used in traditional medicine in Oaxaca, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 17, 1-15. <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00431-y>
- Mieles-Giler, J. W., Guerrero-Calero, J. M., Moran-González, M. R., & Zapata-Velasco, M. L. (2024). Evaluación de la degradación ambiental en hábitats Naturales. *Journal of Economic and Social Science Research*, 4(3), 65-88. <https://doi.org/10.55813/gaea/jessr/v4/n3/121>
- Miranda-Nuñez, J. E., Zamilpa-Alvarez, A., Fortis-Barrera, A., Alarcon-Aguilar, F. J., Loza-Rodriguez, H., Gomez-Quiroz, L. E., ... y Blancas-Flores, G. (2021). GLUT4 translocation in C2C12 myoblasts and primary mouse hepatocytes by an antihyperglycemic flavone from *Tillandsia usneoides*. *Phytomedicine*, 89, 153622. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153622>
- Mishra, S., y Kumar, T. (2023). Culture, tradition, and indigenous practices on medicinal plants. *Phytochemicals in Medicinal Plants: Biodiversity, Bioactivity and Drug Discovery*, 53. <https://doi.org/10.1515/9783110791891-003>
- Nazaruk, J., y Borzym-Kluczyk, M. (2015). The role of triterpenes in the management of diabetes mellitus and its complications. *Phytochemistry Reviews*, 14, 675-690. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9369-x>
- Okon, E., Gawel-Beben, K., Jarzab, A., Koch, W., Kukula-Koch, W., y Wawruszak, A. (2023). Therapeutic Potential of Anthracene Derivatives for Breast Cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 15789. [10.20944/preprints202310.0625.v1](https://doi.org/10.20944/preprints202310.0625.v1)
- Papini, A., Mosti, S., Milocani, E., Tani, G., Di Falco, P., y Brighigna, L. (2011). Megasporogenesis and programmed cell death in *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Protoplasma*, 248, 651-662. <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0221-x>
- Pulido-Esparza, V. A., López-Ferrari, A. R., y Espejo-Serna, A. (2004). Flora bromeliológica del estado de Guerrero, México: riqueza y distribución. *Botanical Sciences*, (75), 55-95. <https://doi.org/10.17129/botsci.1693>
- Ramachandhiran, D., Vinothkumar, V., y Babukumar, S. (2019). Paeonol exhibits anti-tumor effects by apoptotic and anti-inflammatory activities in 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene induced oral carcinogenesis. *Biotechnic y Histochemistry*, 94(1), 10-25. <https://doi.org/10.1080/10520295.2018.1493221>
- Reddy, K. S. K., Chen, Y. C., Wu, C. C., Hsu, C. W., Chang, Y. C., Chen, C. M., y Yeh, C. Y. (2018). Cosensitization of structurally simple porphyrin and anthracene-based dye for dye-sensitized solar cells. *ACS applied materials y interfaces*, 10(3), 2391-2399. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b12960>

- Rojas, F. E., & Saavedra-Mera, K. A. . (2022). Diversificación de Cultivos y su Impacto Económico en las Fincas Ecuatorianas. *Revista Científica Zambos*, 1(1), 51-68. <https://doi.org/10.69484/rcz/v1/n1/21>
- Sharifi-Rad, J., Cruz-Martins, N., López-Jornet, P., Lopez, E. P. F., Harun, N., Yeskaliyeva, B., ... y Cho, W. C. (2021). Natural coumarins: Exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6492346>
- Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z., y Yehoshua, Y. (2013). Natural antioxidants: function and sources. *Food and Nutrition Sciences*, 4(6), 7-15. 10.4236/fns.2013.46083
- Škubník, J., Pavlíčková, V., y Rimpelová, S. (2021). Cardiac glycosides as immune system modulators. *Biomolecules*, 11(5), 659. <https://doi.org/10.3390/biom11050659>
- Smith-Oka, V. (2008). Plants used for reproductive health by Nahua women in northern Veracruz, Mexico. *Economic botany*, 62, 604-614. <https://doi.org/10.1007/s12231-008-9026-7>
- Srikrishna, D., Godugu, C., y Dubey, P. K. (2018). A review on pharmacological properties of coumarins. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 18(2), 113-141. <https://doi.org/10.2174/1389557516666160801094919>
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., y Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*, 5(3), 93. <https://doi.org/10.3390/medicines5030093>
- Vasconcelos, A. L., Vasconcelos, A. L., Ximenes, E. A., y Randau, K. P. (2013). *Tillandsia recurvata* L. (Bromeliaceae): aspectos farmacognósticos. *Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada*, 34(2), 151-159.
- Vite-Posadas, J. A., Brechú-Franco, A. E., Laguna-Hernández, G., Rojas-Bribiesca, M. G., y Osuna-Fernández, H. R. (2011). Morphoanatomical characterization and antimicrobial activity of *Tillandsia imperialis* (Bromeliaceae). *Polibotánica*, (31), 20-29.
- Yadav, A. R., y Mohite, S. K. (2020). Toxicological evaluation of *Psidium guajava* leaf extracts using brine shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology*, 12(4), 258-260. <http://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.5958/0975-4377.2020.00042.7>
- Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., y Piao, G. (2016). The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules*, 21(5), 559. <https://doi.org/10.3390/molecules21050559>
- Zamora Crescencio, P., Flores Guido, J. S., y Ruenes Morales, R. (2009). Flora útil y su manejo en el cono sur del estado de Yucatán, México. *Polibotánica*, (28), 227-250.
- Zhang, X. (2016). Organic fertilizer for *Tillandsia cyanea*. Patent CN 105384570 A.