



CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Artículo original de investigación

Polifenoles potencialmente activos identificados en extractos de plantas de la flora cubana

Iraida Spengler Salabarría ^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-2181-4535>

Trina Haydee García Pérez ^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-4044-0567>

Idania Scull Rodríguez ² <https://orcid.org/0000-0002-9516-7182>

Lourdes Savón Valdés ² <https://orcid.org/0000-0001-9880-0310>

Gloria del Barrio ³ <https://orcid.org/0000-0001-5758-8595>

Annele Roque ³ <https://orcid.org/0000-0001-9204-5107>

Idania Rodeiro Guerra ⁴ <https://orcid.org/0000-0002-2692-6050>

Ivones Hernández Balmaseda ⁴ <https://orcid.org/0000-0001-5276-0851>

Liudis L. Pino ¹ <https://orcid.org/0000-0002-3917-6703>

Liena de Regla Ponce Rey ² <https://orcid.org/0000-0001-5427-6924>

Daniel Méndez-Rodríguez ⁵ <https://orcid.org/0000-0001-7148-3191>

¹ Centro de Estudios de Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba

² Departamento de Monogástrico, Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba

³ Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba

⁴ Departamento de Farmacología, Instituto de Ciencias del Mar, La Habana, Cuba

⁵ Universidad de Camagüey, Camagüey, Cuba

*Autor para la correspondencia: iraida@fq.uh.cu

Revisores

Luis Javier González López
Centro de Ingeniería Genética y
Biotecnología, La Habana, Cuba

Editor

Lisset González Navarro
Academia de Ciencias de Cuba,
La Habana, Cuba

Traductor

Darwin A. Arfduengo García
Academia de Ciencias de Cuba,
La Habana, Cuba

RESUMEN

Introducción: Las plantas *Maytenus buxifolia* subsp. *cajalbanica* Borhidi & Muñiz, *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob, *Mucuna* (*Mucuna pruriens* [L.] DC. var. *utilis*, *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum*), *Coccoloba cowellii* Britton y el alga parda *Sargassum fluitans* presentan potencialidades para su utilización en la química medicinal y en la agricultura. Este trabajo tiene como objetivo estudiar los extractos de estas especies mediante técnicas fitoquímicas de aislamiento, caracterización, identificación y cuantificación de sus metabolitos secundarios, así como mediante la evaluación de su actividad biológica. Métodos: Los flavonoides y la lactona sesquiterpénica reportados se aislaron y caracterizaron mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas respectivamente. Se identificaron y cuantificaron metabolitos mediante espectrometría de masas en tándem en el modo de inyección directa de la muestra y acoplado a un ultracromatógrafo líquido de alta resolución. La actividad antioxidante se determinó in vitro por la capacidad de atrapamiento del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo y la reducción del hierro férrico en el ensayo del poder antioxidante reductor de iones férricos e in vivo utilizando las ratas como animal de laboratorio en un modelo de intoxicación inducida con tetracloruro de carbono. Se evaluó la actividad antiviral in vitro frente al virus del dengue 2 y los enterovirus humanos: coxsackievirus A16, echovirus 9 y coxsackievirus A24. Resultados: Se identificaron compuestos polifenólicos de la familia de las proantocianidinas y flavonoides en la mayoría de las plantas estudiadas. Se aislaron 1 lactona sesquiterpénica novedosa para la ciencia y 7 flavonoides. Se cuantifica-

ron diferentes tipos de metabolitos y en especial los flavonoides mayoritarios de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob por espectrometría de masas en tándem acoplado a un ultracromatógrafo líquido de alta resolución. Se encontraron propiedades antioxidantes, antivirales y efectos sobre la función de la glicoproteína P en las plantas estudiadas. Conclusiones: Se identificaron compuestos polifenoles en la mayoría de las plantas estudiadas lo que justifica las propiedades biológicas encontradas en sus extractos. Se aisló e identificó una lactona sesquiterpénica por primera vez. Estos resultados constituyen una importante contribución al conocimiento de nuestra flora y de su potencialidad en productos naturales bioactivos.

Palabras clave: flora cubana; polifenoles; lactona sesquiterpénica; actividad antioxidante; actividad antiviral

Potentially active polyphenols identified in plant extracts of the Cuban flora

ABSTRACT

Introduction: *Maytenus buxifolia* subsp. *cajalbanica* Borhidi & O. Muñiz, *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob, *mucuna* (*Mucuna pruriens* [L.] DC. var. *utilis*, *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum*), *Coccoloba cowellii* Britton plants and the brown algae *Sargassum fluitans* present potential for their use in medicinal chemistry and agriculture. The objective of this work was to study their extracts using phytochemical techniques of isolation, characterization, identification and quantification of their secondary metabolites, as well as by evaluating their biological activity. Methods: They were isolated and characterized the flavonoids and sesquiterpene lactone reported by chromatographic and spectroscopic techniques, respectively. They were identified and quantified metabolites by tandem mass spectrometry in the direct injection mode of the sample and coupled to a high-resolution liquid ultra-chromatograph. It was determined antioxidant activity in vitro by the trapping capacity of the DPPH radical and the reduction of ferric iron in the FRAP assay and in vivo using rats as a laboratory animal in a carbon tetrachloride-induced intoxication model. It was evaluated in vitro antiviral activity against Dengue virus 2 and human enteroviruses: coxsackievirus A16, echovirus 9 and coxsackievirus A24. Results: They were identified Polyphenolic compounds of the family of proanthocyanidins and flavonoids in most of the plants studied. They were isolated one sesquiterpene lactone novel to science and seven flavonoids. They were quantified different types of metabolites and especially the major flavonoids of *Ageratina havanensis* by tandem mass spectrometry coupled to a high-resolution liquid ultrachromatograph. They were found antioxidant and antiviral properties and effects on P-glycoprotein function in the plants studied. Conclusions: They were identified polyphenol compounds in most of the plants studied, which justifies the biological properties found in their extracts. Furthermore, it was isolated and identified a sesquiterpene lactone for the first time. These results constitute an important contribution to the knowledge of our flora and its potential in bioactive natural products.

Keywords: cuban flora; polyphenols; sesquiterpene lactone; antioxidant activity; antiviral activity

INTRODUCCIÓN

El uso de plantas medicinales para el tratamiento de diversas dolencias ha sido un recurso ampliamente utilizado por el hombre a lo largo de la historia de la humanidad. A pesar de que en muchas ocasiones su uso está basado en cono-

cimientos empíricos, la comunidad científica ha demostrado que las plantas constituyen una fuente de nuevos principios activos con potenciales efectos biológicos. El trabajo interdisciplinario en la ciencia ha conllevado a un gran desarrollo a lo largo de los tiempos. Las preparaciones tradicionales sim-

ples, cocimientos y té, han ido evolucionando hasta formas farmacéuticas tecnológicamente sofisticadas, los fitomedicamentos. ⁽¹⁾ Los consumidores ven los fitofármacos como una alternativa terapéutica menos agresiva al organismo que un similar sintético, pero exigen de ellos las mismas cualidades y seguridad que los medicamentos sintéticos.

Existen muchos reportes en la literatura sobre los factores que influyen en la producción de metabolitos secundarios, tales como el clima, el hábitat y el estado fenológico de las plantas. Debido a esto es necesario la estandarización de la composición química cualitativa y cuantitativa de estos extractos vegetales, para que los medicamentos fitoterápicos tengan las mismas cualidades que los medicamentos sintéticos. ⁽²⁾ A pesar de lo antes expuesto, todavía es limitado el número de trabajos de investigación que relacionan la actividad de los extractos con la composición química y la actividad de sus componentes químicos. Los extractos naturales constituyen verdaderos cocteles donde cada componente juega un papel y la acción conjunta de todos hace posible su efecto farmacológico. De ahí que en la actualidad debido a la gran necesidad de descubrir nuevos fitofármacos se emplee la espectrometría de masas en tándem con ionización por electro-nebulización en el modo de inyección directa de la muestra (FIA/ESI/ MSn) y acoplada a cromatografía líquida de alta resolución (UPLC/ESI/MSn) para caracterizar extractos desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo por ser métodos analíticos rápidos, sensibles y precisos. ^(3,4)

Cuba, por la riqueza y biodiversidad de sus recursos naturales, constituye un país de excelencia para el estudio y aprovechamiento de estos recursos, sin embargo, los mismos han sido poco estudiados y evaluados con vistas al conocimiento científico de sus propiedades y aplicaciones por parte de entidades nacionales. En tal sentido hemos considerado priorizar y seleccionar esta temática relacionada con el estudio fitoquímico y de actividad biológica de extractos de mediana y alta polaridad ricos en polifenoles obtenidos de plantas cubanas que constituyan candidatos potenciales de fármacos y para la alimentación animal.

Teniendo en cuenta que los polifenoles (ácidos fenólicos, flavonoides, proantocianidinas) por sus características estructurales (grupos hidroxilos aromáticos) presentan un amplio espectro de propiedades biológicas, entre las que se destacan antioxidantes, antiinflamatorias, antivirales y otras, hemos escogido plantas endémicas y no estudiadas en las que, según la literatura, pertenecen a géneros ricos en este tipo de compuestos. ⁽⁵⁾ De manera que las bioactividades priorizadas han estado dirigidas a la búsqueda de candidatos fitofarmacológicos y de alimentación animal (antioxidantes, efectos sobre la función de la glicoproteína [Pgp] y antivirales). Este trabajo tiene como objetivo estudiar los extractos de estas plantas median-

te técnicas fitoquímicas de aislamiento, caracterización, identificación y cuantificación de sus metabolitos secundarios, así como mediante la evaluación de su actividad biológica.

MÉTODOS

Reactivos

En el trabajo experimental se emplearon los disolventes: n-hexano, cloruro de metileno, cloroformo, acetato de etilo, etanol, metanol, n-butanol y agua destilada; algunos de calidad pura para análisis y otros de calidad comercial, previamente destilados. Para los experimentos de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), FIA/ESI/IT/MSⁿ y UPLC-ESI-MSⁿ se empleó metanol absoluto grado UPLC/MS (J.T. Baker®, Phillipsburg, New Jersey, EE. UU. y Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemania) y agua destilada grado HPLC obtenida usando un sistema de purificación Milli-Q® (Millipore, Bedford, MA, EE. UU.). Como fase estacionaria para la cromatografía líquida de columna por gravedad se utilizó Sephadex® LH-20 y Gel de Sílice 60 de tamaño de grano (0,06-0,2) mm (70-230) meSH Merck®.

Recolección del material vegetal

La corteza del tallo de *Maytenus buxifolia* subsp. *cajabanica* Borhidi & Muñiz se recolectó en La Palma, Sierra de Cajalbana, Pinar del Río, en diciembre del 2012. Fue recolectado e identificado por la Ms. C. Ramona Oviedo, perteneciente al Instituto de Ecología y Sistemática (número de herbario HAC-43117). ⁽⁵⁾ La especie *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob. (órganos aéreos), fue colectada en Alamar, Habana del Este, en estado de floración en el mes de marzo de los años 2009 y 2012 y en estado vegetativo en marzo de 2010 y 2012. La planta fue identificada por la Dr. C. Iralys Ventosa del Instituto de Ecología y Sistemática donde hay un espécimen conservado (número de herbario HAC-42498). ^(6,7) Se emplearon plantas de *mucuna* (*Mucuna pruriens* [L] DC. vc. *utilis*, *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum*) sembradas a partir de semillas que se obtuvieron en el banco de semillas de leguminosas de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Miguel Sistach Naya del Instituto de Ciencia Animal. No se aplicó fertilización ni riego en junio, época lluviosa, en un suelo de tipo pardo con carbonato. ^(8,9) Las hojas de *Coccoloba cowellii* Britton fueron colectadas en abril de 2018 cerca de Albaisa, en el municipio de Camagüey. La planta fue identificada taxonómicamente, por el curador del herbario Julián Acuña Galé de la Universidad de Camagüey, donde se depositó un ejemplar de voucher (número 12057). ⁽¹⁰⁾

Procesamiento del material vegetal

Los órganos aéreos (hojas, tallos y flores) de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob y la corteza de

Maytenus buxifolia subsp. *cajalbanica* se secaron a 40 °C y se extrajeron sus metabolitos secundarios con n-hexano y etanol. ⁽⁵⁻⁷⁾ El extracto etanólico de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob se concentró a presión reducida hasta sirope, se disolvió en una disolución hidroalcohólica al 30 % y se extrajo con acetato de etilo y n-butanol en un embudo de separación. Los extractos resultantes se concentraron a presión reducida para obtener los crudos de acetato de etilo y n-butanol. ^(6,7)

Para la elaboración de las harinas de *mucuna*, hojas, tallos tiernos y flores de las plantas se cortaron y trocearon. Posteriormente, se secaron a temperatura ambiente, en un local ventilado. Se redujo la humedad hasta 20 %, lo que se monitoreó con la determinación de la materia seca (MS) en diferentes momentos del proceso de secado. Las muestras se molinaron a tamaño de partícula de 1 mm y se almacenaron en bolsas de papel hasta el momento de su uso. ^(8,9) El extracto de polifenoles se elaboró por triplicado, para ello se pesaron 100 g de la harina y se le añadieron 1000 mL de una solución hidroalcohólica al 70 %. Se realizó la extracción durante 15 min con la asistencia de un equipo de ultrasonido marca Bandelin Sonorex, serie 2000, fabricado en Alemania. Se separó el sobrenadante y al residuo sólido se le repitió 3 veces el proceso de extracción. La solución resultante se filtró y se rotoevaporó (se redujo el volumen a 50 %). El extracto obtenido se guardó en frascos de color ámbar y refrigeración, a temperatura de (5-8) °C hasta su uso. ⁽⁸⁾

Los metabolitos secundarios de las hojas de *Coccoloba cowellii* se extrajeron utilizando un dispositivo de extracción dinámico asistido por ultrasonido. Se introdujeron 5 g de material vegetal en la celda de extracción ([9 x 2] cm, d.i.). La columna se preparó agregando un pequeño trozo de algodón, material vegetal y una cantidad adecuada de algodón, para formar una columna de extracción. La columna se colocó en un limpiador ultrasónico de Scientz, modelo SB-3200STD, fabricado en China, frecuencia de vibración a 40 kHz, 80 % de potencia, con entrada conectada a una bomba peristáltica mediante un tubo y salida a un matraz. La extracción dinámica asistida por ultrasonido se llevó a cabo alimentando continuamente el solvente de extracción en la columna por la bomba y asistiendo por onda ultrasónica, donde se utilizó un caudal de 3 mL/min, y la temperatura se estableció en 40 °C. El material vegetal se desgrasó primero con 1 mL de éter etílico, éter de petróleo 1:1 (v/v), durante 1 min y se extrajo dinámicamente durante 35 min. Luego se realizó una segunda extracción dinámica utilizando etanol acuoso 8:2 (v/v) durante 35 min para obtener el extracto etanólico. Después del procedimiento la fracción del efluente, aproximadamente 100 mL, se recogió en 150 mL de matraz aforado. ⁽¹⁰⁾

El extracto hidroalcohólico del alga *S. fluitans* se concentró mediante rotoevaporación al vacío a 50 °C durante 2 h

hasta la formación de sirope. Posteriormente se congeló en nitrógeno líquido y se liofilizó en la liofilizadora Christh Alpha 1-2 LD plus a -20 °C en bulbos de 5 mL. El material liofilizado se conservó a temperatura ambiente y se protegió de la luz hasta su posterior uso. ^(11,12)

Fraccionamiento del crudo de acetato de etilo de las hojas de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob colectada en estado de floración

El crudo de acetato de etilo se sometió a un fraccionamiento por cromatografía líquida en columna por exclusión (CLC-exclusión) con fase móvil n-hexano/CHCl₃/MeOH 2:1:1. Las fracciones colectadas se reunieron de acuerdo a su perfil cromatográfico obteniéndose finalmente 11 (A-K). La fracción E (98 mg) se fraccionó mediante cromatografía de adsorción (CLC-adsorción) empleando como fase móvil CH₂Cl₂/MeOH en orden creciente de polaridad. De la fracción 7, eluida con CH₂Cl₂/MeOH al 10 % se obtuvo el compuesto 7 (18 mg) puro. La fracción G (75 mg) se fraccionó por CLC-adsorción utilizando como eluyente n-hexano/CHCl₃/MeOH 2:3:0,5. De la fracción 5 se obtuvo el compuesto 3 (12 mg). De las fracciones J (225 mg) e I (170 mg) se purificaron 2 compuestos por cromatografía en capa delgada (CCD) preparativa utilizando como fase móvil CHCl₃/MeOH 9,7:0,3. Los compuestos se denominaron 1 (95 mg) y 2 (38 mg) respectivamente. La fracción K (58 mg) mostró una mancha oscura por CCD por lo que se decidió purificar el compuesto realizando una CLC-adsorción con fase móvil CHCl₃/MeOH 9,7:0,3; obteniéndose de la fracción 3 el compuesto 8 (4,5 mg) puro. La fracción H (328,1 mg) fue separada por columna de sílica gel utilizando como fase móvil n-hexano/CHCl₃/MeOH 1:3:1. La fracción 20-24 (89 mg) se preparó para ser purificada mediante HPLC-PDA, disolviéndose en metanol y añadiéndole gotas de agua. La separación de los compuestos se realizó utilizando una columna de fase reversa C18 (Phenomenex Luna [2], 250 mm x 4,6 mm i.d, 5 mm) y fase móvil H₂O+TFA 0,1 % (disolvente A) y MeOH + TFA 0,1 % (disolvente B) a una velocidad de flujo de 4,7 mL/min. La elución se realizó bajo un gradiente isocrático (35 % de B) durante 100 min. De la separación cromatográfica se obtuvieron los compuestos 4 (4,7 mg, t_R = 14,71 min), 5 (20,9 mg, t_R = 24,01 min) y 6 (29,0 mg, t_R = 27,66 min). ⁽⁶⁾

Experimentos de espectrometría de masas en tándem

En los experimentos de espectrometría de masas en tándem en el modo de inyección directa de la muestra (FIA/ESI/IT/MSn) los espectros de masas de iones totales (rango de m/z 50–2000) y los MSn se obtuvieron en modo negativo y positivo. Para los análisis MSn la energía de colisión para cada fragmentación fue de 35 %. Los parámetros instrumen-

tales optimizados fueron: temperatura del capilar 300 °C, voltaje del capilar 13 V, voltaje del aerosol 5 kV, velocidad de flujo del gas principal 35 (nitrógeno, unidades arbitrarias) y velocidad de flujo del gas auxiliar 10 (unidades arbitrarias).^(5,6,8) Para las separaciones cromatográficas en los experimentos de espectrometría de masas en tándem acoplado a un ultracromatógrafo líquido de alta resolución (UPLC/ESI/IT/ MSn), las muestras (20 µL) se inyectaron en una columna Thermo UPLC C18 ([2,1 x 50] mm x 1,7 mm) con una mezcla de disolventes de H₂O (disolvente A) y metanol (disolvente B), ambos conteniendo 0,1 % de ácido fórmico. La muestra se eluyó con un gradiente lineal de 0 % a 100 % B a una velocidad de flujo de 400 µL/min. La detección por agar papa dextrosa (PDA) se realizó en 3 longitudes de onda simultáneamente (250, 280 y 365) nm; los espectros UV fueron archivados en un rango entre (200-600) nm. La detección por espectrometría de masas en tándem permitió obtener cromatogramas de iones totales en un rango (50-2000) m/z en modo negativo. Para los análisis MSn la energía de colisión para cada fragmentación fue de 35 %. Los parámetros instrumentales optimizados fueron: temperatura del capilar 300 °C, voltaje del capilar 13 V, voltaje del aerosol 5 kV, velocidad de flujo del gas principal 35 (nitrógeno, unidades arbitrarias) y velocidad de flujo del gas auxiliar 10 (unidades arbitrarias).^(6,7) La cuantificación de los flavonoides mayoritarios de la planta *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob se realizó en una columna analítica ACQUITY™ UPLC Xbridge C18 (2,1 x 50 mm, 2,5 mm; Waters Corporation, Milford, MA, EE. UU.) y las muestras se eluyeron con una mezcla de H₂O + 0,1 % de HCOOH (disolvente A) y metanol (disolvente B) a una velocidad de flujo de 400 µL /min. Se empleó el siguiente programa de elución: (0-8) min, 47 % de B isocrático; (8-10) min, 47 %-100 % B lineal (volumen de inyección 5 µL). Los compuestos se detectaron con las mismas condiciones mencionadas en el experimento UPLC/ESI/IT/MSn pero en este caso se monitorearon las transiciones sakuranetina (285 > 165) y 7-metoxiaromadendrina (301 > 165). El método de cuantificación se validó mediante los parámetros de linealidad, límite de detección (LDD), límite de cuantificación (LDC), efecto de matriz, recuperación, precisión y exactitud.⁽⁷⁾

Ensayos de capacidad antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob y *Maytenus buxifolia* subsp. *cajalbanica* y *Coccoloba cowellii* se determinó *in vitro* por la capacidad de atrapamiento del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), la reducción del hierro férrico en el ensayo del poder antioxidante reductor de iones férricos (FRAP).^(5,7,10) También se determinó la capacidad de inhibir la peroxidación lipídica de los extractos de *Ageratina havanensis* (Kun-

th) R. M. King & H. Rob en homogenato de cerebro.⁽⁷⁾ Los efectos de los extractos de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob sobre la actividad de la glicoproteína P (P-gp) se evaluaron mediante el ensayo de la Rhodamina 123.⁽⁷⁾ Se determinó el efecto antioxidante y hepatoprotector de la harina de forraje de *Mucuna pruriens* (L) DC. *vc. utilis* y su extracto de polifenoles *in vivo* utilizando ratas como animal de laboratorio en un modelo de intoxicación inducida con tetracloruro de carbono. Se utilizaron para ello ratas jóvenes Sprague Dawley, de ambos sexos, con peso entre (125-150) g y edad promedio entre 7 y 8 semanas.⁽⁸⁾

Evaluación del poder nutracéutico de la harina de *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum*

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 5 repeticiones. Se determinó la proteína bruta, proteína verdadera y fibra detergente neutro de la harina, así como el contenido de ácidos grasos, concentración de carotenoides totales, polifenoles totales, taninos totales, taninos condensados y saponinas totales.⁽⁹⁾

Cuantificación del contenido fenólico total, de taninos y de flavonoides de las hojas de *Coccoloba cowellii*

La concentración de fenoles totales de la muestra se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu. La mezcla se agitó y se ajustó a 50 mL con agua destilada, luego se dejó reposar durante 30 min para permitir que sedimentaran los sólidos insolubles, se filtró y la solución obtenida se utilizó como reactivo para el análisis de taninos totales. Posteriormente, se mezclaron 500 µL del extracto etanólico con 500 µL del reactivo de gelatina y se incubaron durante 30 min en un baño de agua a 37 °C, luego se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 min utilizando una centrífuga de Yingtai Instrument, modelo TG16 fabricada en China, y se tomaron 500 µL del sobrenadante para la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu como se describió anteriormente. El contenido total de taninos se calculó mediante la fórmula taninos (g) = fenólicos totales (g) - fenólicos no taninos (g).⁽¹⁰⁾ La cantidad de flavonoides totales en los extractos se midió espectrofotométricamente de acuerdo a informes previos.⁽¹⁰⁾

Actividad antiviral

Evaluación preliminar de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob contra virus dengue 2

La línea celular de mosquito *Aedes albopictus* C6/36-HT, sublínea de la C6/36 (ATCC CRL 1660 y la línea BHK21 clono-15 fibroblastos de riñón de hámster sirio recién nacido, fueron propagadas en medio de crecimiento medio mínimo

esencial (MEM) suplementado con 1 % de aminoácidos no esenciales (100X), 2 mM de glutamina, y 10 % de suero fetal bovino (Sigma-Aldrich). Ambas líneas celulares se mantuvieron en el medio mencionado anteriormente con concentraciones reducidas de suero al 2 %. En los ensayos de actividad antiviral se empleó la cepa de virus dengue 2 (DENV-2 A15) aislada del suero de un paciente con fiebre dengue (FD) durante la epidemia cubana de fiebre hemorrágica del dengue en 1981, perteneciente al Banco de cepas virales del Laboratorio de arbovirus del Departamento de virología del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. El virus se replicó en la línea celular C6/36 HT y se tituló mediante la formación de placas en células BHK21. La viabilidad celular se determinó mediante el método del MTT (*Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol*, Sigma-Aldrich). La actividad antiviral se evaluó mediante el ensayo de inhibición de la productividad vírica y la actividad virucida extracelular contra DENV-2 A15 se realizó mediante ensayo de reducción del número de placas. ⁽¹³⁾

Actividad antiviral del alga parda *Sargassum fluitans*

La actividad antiviral se evaluó in vitro frente a 3 enterovirus humanos: coxsackievirus A16, echovirus 9 y coxsackievirus A24. La citotoxicidad del extracto se evaluó en las líneas celulares Vero, RD y Hep-2 mediante el método del MTT y se calculó la concentración citotóxica media (CC50) mediante análisis de regresión lineal. El cálculo de la actividad antiviral (CE50) se realizó mediante la inhibición del efecto citopático en las células. Se determinó el índice selectivo (IS) = CC50/EC50. La actividad virucida extracelular y la reducción del rendimiento viral se determinaron mediante un ensayo de titulación viral del punto final. La actividad antiviral se caracterizó mediante un ensayo de tiempo de adición. ^(11,12)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se presenta el estudio fitoquímico y de actividad biológica de 4 plantas superiores y una marina. Se estudiaron las plantas *Maytenus buxifolia* subsp. *cajalbanica* Borhidi & O. Muñiz, *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob, 3 especies de mucuna (*Stizolobium niveum*, *Stizolobium aterrimum*, *Mucuna pruriens* (L) DC.vc. *utilis*), *Coccoloba cowellii* Britton y el alga *Sargassum fluitans*.

El análisis por espectrometría de masas en tándem en el modo de inyección directa de la muestra (FIA/ESI/IT/ MSn) nos permitió identificar 5 monómeros flavan-3-ol, 33 proantocianidinas, 2 flavonoides libres y sus respectivos glicósidos como compuestos mayoritarios del extracto etanólico de la especie *Maytenus buxifolia* subsp. *cajalbanica* Borhidi & O. Muñiz (figuras 1 y 2).

El extracto mostró una fuerte actividad antirradical, como lo refleja el bajo valor de IC 50 ($11,37 \pm 2,25$ mg/mL) y el por-

centaje de inhibición de la formación de DPPH ($86,29 \pm 0,86$ %). El valor IC 50 del extracto ($11,37 \pm 2,25$) fue significativamente menor ($p < 0,05$) que el de ácido ascórbico ($20,35 \pm 3,19$) mg/mL. Además, el extracto crudo de la planta estudiada posee una significativa capacidad reductora, que es comparable a la actividad del ácido ascórbico. ⁽⁵⁾

De la especie *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob, se estudió la composición química de los extractos de los órganos aéreos teniendo en cuenta el estado fenológico en el cual se encontraba la planta en el momento de la colecta. Se logró, mediante técnicas cromatográficas, el aislamiento de 7 flavonoides (6 del tipo flavanona y 1 dihidroflavonol) y 1 lactona sesquiterpénica cuya estructura se reporta por primera vez (figura 3).

Mediante la técnica de espectrometría de masas en tándem se comparó la composición química cualitativa y cuantitativa de los extractos de la planta colectada, en el modo de inyección directa de la muestra y acoplada a la cromatografía líquida de alta resolución, en estado de floración y vegetativo encontrándose que en ambos estados fenológicos se producen los mismos metabolitos secundarios (figura 4). ^(6,7) Sin embargo, se encontró que los metabolitos mayoritarios estaban en mayor concentración en el estado vegetativo. ⁽⁷⁾

Se evaluaron los efectos citotóxicos de los extractos obtenidos de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob. Los tratamientos redujeron la viabilidad celular mostrando solo ligeras diferencias entre los productos. En todos los casos, se encontraron diferencias significativas en comparación con las células de control para valores superiores a 250 g/mL. Este estudio también mostró efectos inhibidores de todos los extractos etanólicos sobre la función de la P-gp en la línea celular 4T1 a la mayor concentración evaluada (200 µg/mL). Estos efectos no estaban relacionados con el estado fenológico de la planta. La actividad secuestradora de radicales libres de los extractos de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob evaluados fue significativamente mayor en la floración ($p < 0,05$) en comparación con la temporada vegetativa, mientras tanto, la capacidad reductora fue significativamente mayor en estado vegetativo ($p < 0,05$). Por otro lado, los extractos de la temporada de floración mostraron una inhibición significativa ($p < 0,05$) de la peroxidación de lípidos contra la peroxidación de fosfolípidos del cerebro en comparación con los extractos de la etapa vegetativa. ⁽⁷⁾ Todos los extractos de la planta colectados en época de floración inhibieron la replicación viral al evidenciarse disminución del número de placas de lisis, sin embargo, no se evidenció disminución del título infectivo viral en el ensayo virucida. El tratamiento con la sakuranetina mostró valores de inhibición de la productividad viral entre 61 % y 91 %; para la 7-metoxiaroma-

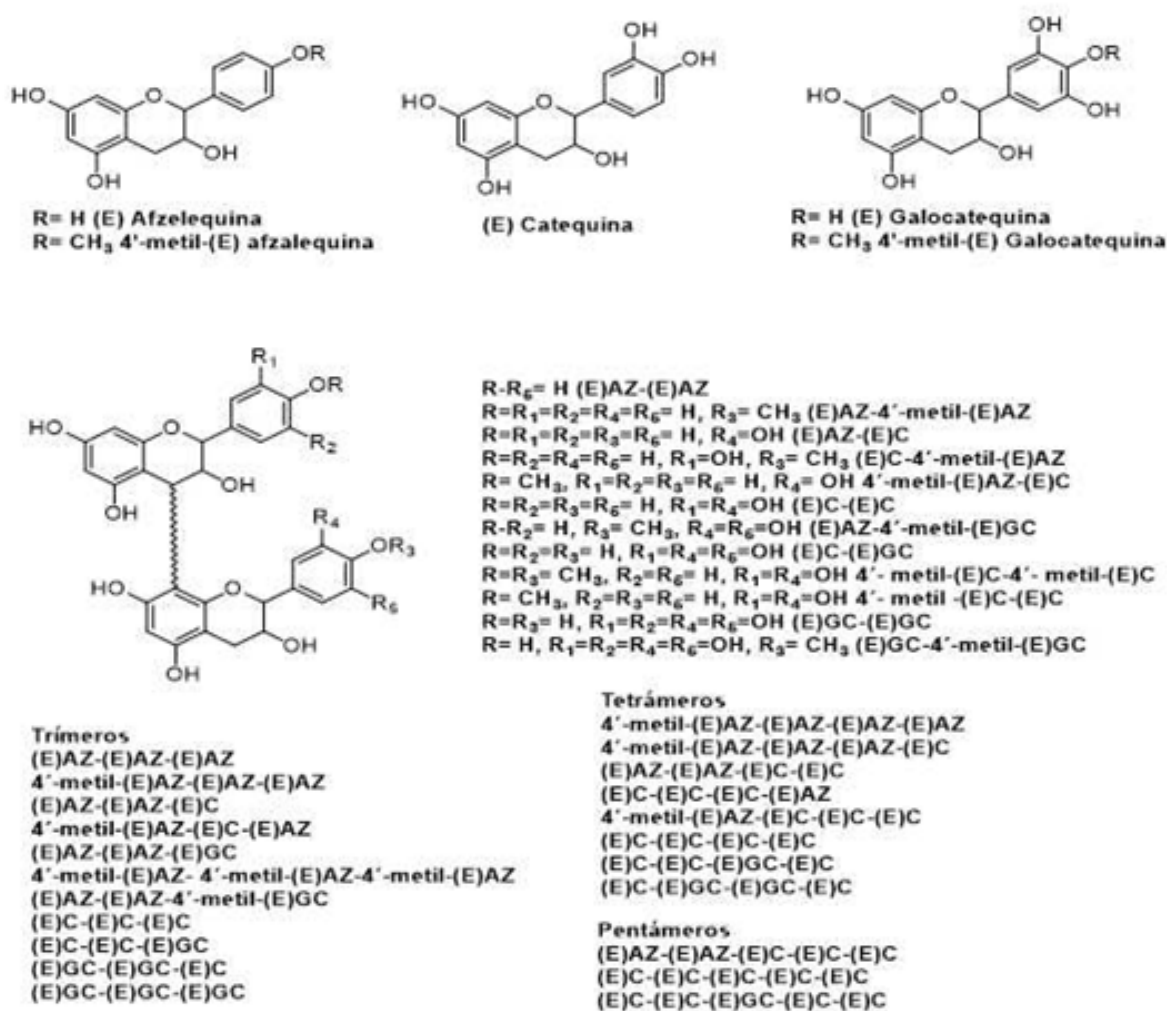


Fig. 1. Estructura de los monómeros y proantocianidinas identificadas en el extracto etnólico de *Maytenus buxifolia* subsp. *cajalbanica* Borhidi & O. Muñiz.

dendrina se registraron valores de reducción viral entre 64 % y 86 %.⁽¹³⁾ Se determinó la composición cualitativa de polifenoles mayoritarios presentes en el extracto de polifenoles de *Mucuna pruriens* (L) DC. vc. *utilis* mediante espectrometría de masas en tándem, FIA/ESI/MSn, (figura 5).⁽⁸⁾

En la evaluación de la actividad antioxidante y hepatoprotectora de la harina de forraje de *Mucuna pruriens* (L) DC. vc. *utilis* y su extracto de polifenoles, el incremento de la concentración de la enzima catalasa en hígado (10,42 UI/L) y suero (20,50 UI/L) indicó que la harina y su extracto transformaron el estado redox producido por el tetracloruro de carbono (CCl₄). La harina de forraje y su extracto de polifenoles mostraron su efecto hepatoprotector ante la acción nociva del CCl₄, evaluado por la alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa. Hubo diferencias ($P < 0,05$) entre los materiales vegetales evaluados para los indicadores nutritivos y nutracéuticos estudiados.⁽⁸⁾ Los valores mayores de proteína bruta, proteína verdadera y fibra detergente neutro se obtuvieron para la

harina de *Stizolobium niveum* (277,97; 255,42; 625,51) g/kg MS. El contenido de los ácidos linoleico, linolénico, esteárico y palmítico en esta harina sugiere mayor calidad de la misma. La concentración de carotenoides totales, polifenoles totales, taninos totales y saponinas totales fue superior para el *Stizolobium aterritimum* (136,08 ug/g; [25,20; 15,93] g/kg MS; 10,09 mg/100 g), mientras que los taninos condensados asociados a la fibra fueron inferiores (5,68 g/kg MS). Los resultados permitieron comprobar que la harina de forraje de mucuna tiene alto valor nutricional y nutracéutico.⁽⁹⁾

El extracto etanólico *Coccoloba cowellii* Britton mostró actividad antioxidante significativa en ambos ensayos, con valores de 34,01 % ± 4,03 % en el DPPH y reduciendo el complejo Fe³⁺, los que fueron comparables al del ácido ascórbico usado como estándar. El contenido fenólico total del extracto etanólico, calculado a partir de la curva de calibración ($Y = 0,018\ 03 \cdot X + 0,0138$; $R^2 = 0,999$) fue 264,77 ± 5,47 equivalentes de ácido tánico/g de material seco, el

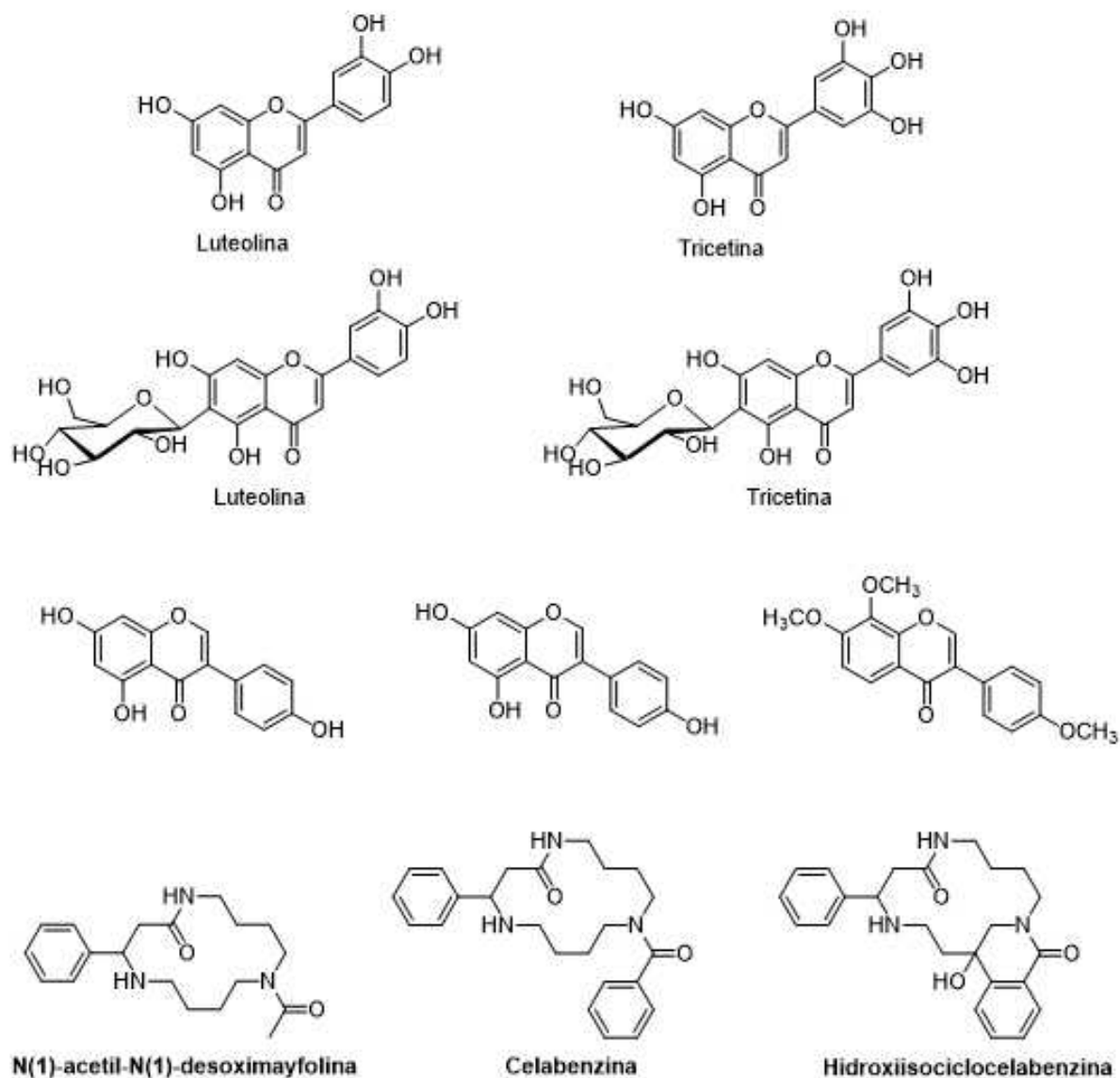


Fig. 2. Estructuras de flavonoides y alcaloides identificados en la corteza del tallo de *Maytenus buxifolia* subsp. *cajalbanica* Borhidi & O. Muñiz.

contenido total de taninos ($Y = 0,01803 * X + 0,0138$; $R^2 = 0,999$) fue $148,02 \pm 2,63$ equivalentes de ácido tánico/g de material seco y el contenido total de flavonoides ($Y = 0,006806 * X + 0,4747$; $R^2 = 0,983$) fue $177,04 \pm 1,08$ equivalentes de quercetina/g de material seco.⁽¹⁰⁾

En general, el extracto hidroalcohólico de *Sargassum fluitans* mostró un bajo efecto citotóxico en las líneas celulares probadas. Las células RD y Vero mostraron similares valores de citotoxicidad ($4569,037 \pm 173 \mu\text{g/mL}$ y $4315,94 \pm 168 \mu\text{g/mL}$ respectivamente). Por el contrario, el extracto se volvió más tóxico para las células Hep-2, respaldado por un valor CC₅₀ inferior ($1263,117 \pm 72 \mu\text{g/mL}$). El extracto mostró actividad antiviral inhibitoria contra todos

los virus probados. También exhibió efecto virucida contra el echovirus 9 y el coxsackievirus A16 y redujo la formación de partículas virales infectivas en las células en más de 3 logaritmos. El extracto fue capaz de inhibir las etapas tempranas y tardías del ciclo replicativo. De este extracto se identificaron, mediante el tamizaje fitoquímico de Rondina y Coussio realizado a la fracción soluble en etanol, quinonas, triterpenos de mayor polaridad, proantocianidinas, catequinas, taninos hidrolizables y azúcares reductores; estos 2 últimos en mayor abundancia. En la fracción insoluble en etanol se detectó un contenido abundante de grupos aminos asociados a la presencia de proteínas y azúcares no reductores o polisacáridos de alto peso molecular.^(11,12)

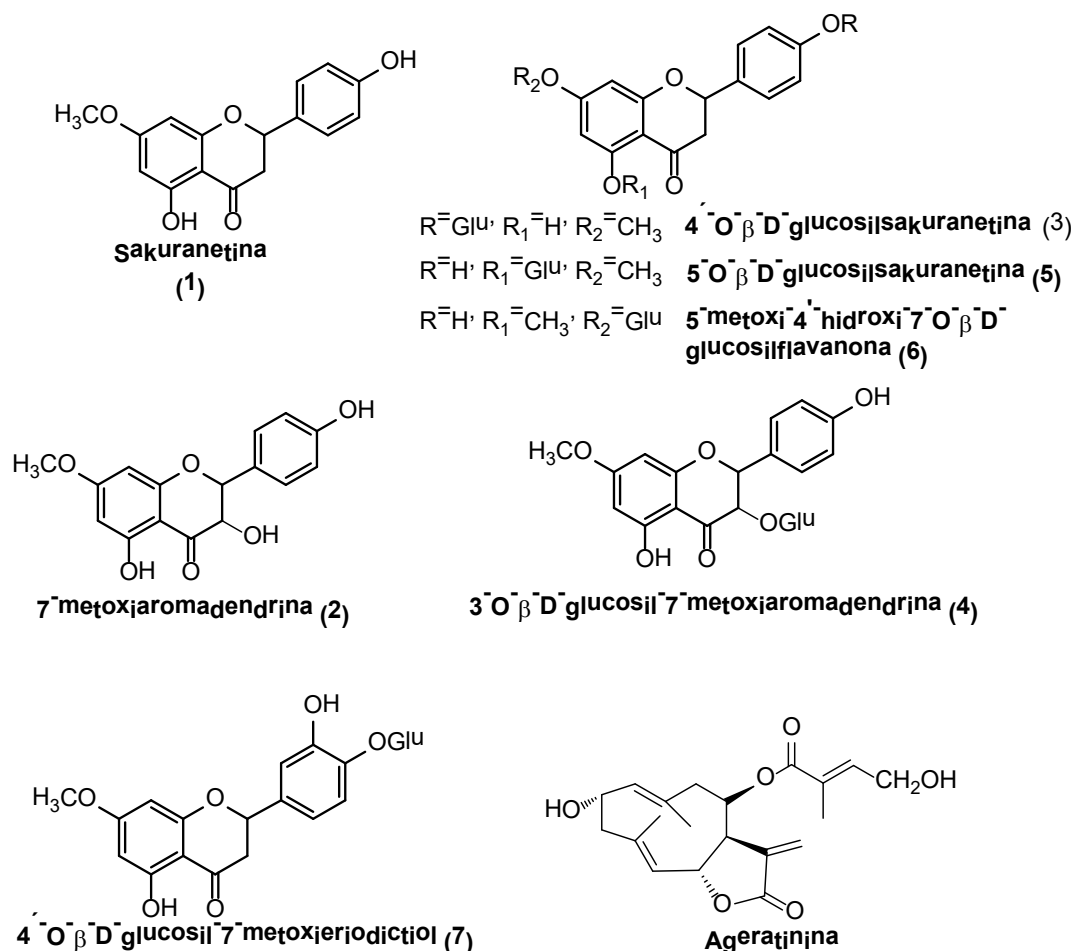


Fig. 3. Compuestos aislados de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob.

Las plantas estudiadas en este trabajo fueron seleccionadas acorde a criterios etnobotánicos, quimiotaxonómicos y de disponibilidad de la especie en cuestión. Los resultados obtenidos contribuyen al conocimiento de las potencialidades de la flora cubana en la química medicinal y en la agricultura.

Del género *Maytenus*, la literatura reporta que los extractos de mediana y alta polaridad obtenidos de sus especies contienen compuestos polifenólicos, tales como, proantocianidinas. La alta complejidad estructural y polaridad de estos compuestos hace muy difícil su aislamiento incluso por técnicas espectroscópicas modernas. *Maytenus buxifolia* subsp. *cajalbanica* Borhidi & O. Muñiz es una planta endémica de Cuba de la cual no aparece reportado ningún estudio fitoquímico ni biológico por lo que nos propusimos determinar el perfil polifenólico y capacidad antioxidante de la corteza de su tallo. El estudio del extracto etanólico mediante la técnica de espectrometría de masas en tándem corroboró la presencia abundante de proantocianidinas.⁽⁶⁾ Por otro lado, los extractos de cloroformo, acetato de etilo y n-butanol obtenidos a partir del extracto etanólico fueron estudiados por este méto-

do, encontrándose que la composición química cualitativa del extracto clorofórmico difiere notablemente de los restantes, identificándose como compuestos mayoritarios alcaloides espermidínicos, mientras que en el extracto de acetato de etilo las proantocianidinas son menos abundantes que en el extracto etanólico y en el de n-butanol casi no están presentes. Esta composición química obtenida para los diferentes extractos justifica que el orden de capacidad sequestradora del radical DPPH en los extractos sea acetato de etilo, n-butanol y menor para el extracto clorofórmico.

La especie *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob crece en rocas calcáreas de México, EE. UU. y Cuba. De esta especie solo aparecen en la literatura 2 estudios fitoquímicos de organismos que crecen en México donde se reportan principalmente el aislamiento de flavonoides. Esta familia de productos naturales es común en este género de plantas y ha sido muy estudiada científicamente por sus variadas actividades biológicas entre las que sobresale la actividad antioxidante. En Cuba, la población ha utilizado esta planta para curar diversas dolencias, pero no existe en la li-

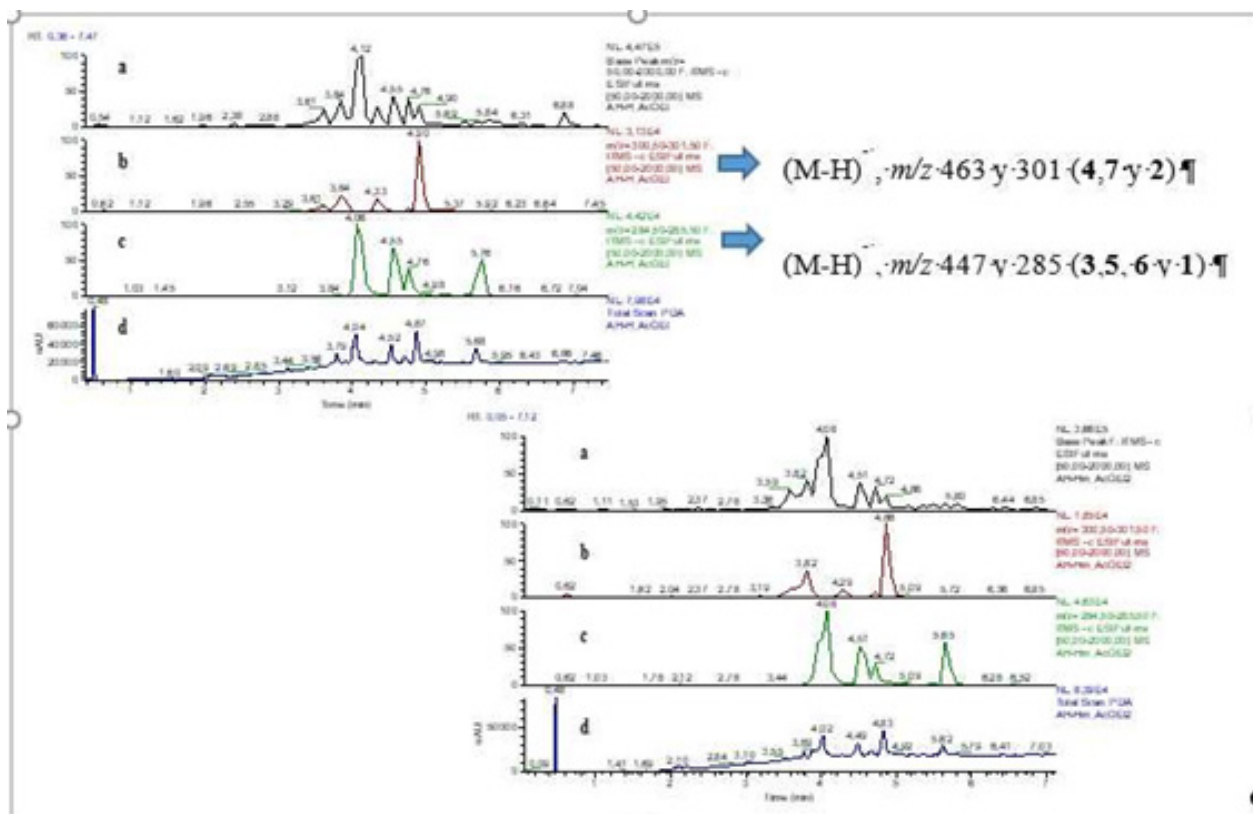


Fig. 4. Cromatogramas del extracto de acetato de etilo de las hojas de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob colectada en etapa de floración (arriba) y vegetativa (abajo).

teratura estudios de actividad biológica ni sobre la composición química de sus extractos. Por otro lado, existen muchos reportes en la literatura sobre los factores que influyen en la producción de metabolitos secundarios, tales como el clima, el hábitat y el estado fenológico de las plantas. Debido a esto es necesario conocer la composición química cualitativa y cuantitativa de los extractos vegetales. De los compuestos aislados de esta planta solo uno, la sakuranetina, fue aislado en un estudio fitoquímico anterior realizado a esta planta cultivada en México.

La técnica de espectrometría de masas en tándem resultó ser muy efectiva para el análisis de los extractos, los cuales son matrices complejas, y permitió la detección de los metabolitos secundarios aislados de la planta en estado de floración sin recurrir a las técnicas cromatográficas habituales. ⁽⁶⁾ La diferencia en la concentración de los metabolitos mayoritarios sakuranetina y 7-metoxiaromadendrina influyó en la actividad antioxidante de los extractos obtenidos de los órganos aéreos de la planta colectada en los 2 estados fenológicos estudiados. Las diferencias encontradas en la actividad antioxidante de los extractos pueden deberse a que en la etapa de floración influyen otros compuestos minoritarios de forma sinérgica en la actividad antioxidante, mientras que en la etapa vegetativa la concentración de estos compuestos

minoritarios es aún menor y por tanto influyen en la actividad antioxidante los flavonoides mayoritarios.

Se determinó que los extractos de *Ageratina havanensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob son capaces de inhibir la función de la glicoproteína P. Este transportador está involucrado en los mecanismos de multirresistencia a las drogas entre las que se encuentran los fármacos anticancerígenos y su actividad está relacionada con el estrés oxidativo en los organismos vivos. En resumen, los resultados desde el punto de vista farmacológicos muestran por primera vez las propiedades antioxidantes de los extractos obtenidos de esta especie que podría ser una fuente de nuevos inhibidores potenciales del eflujo del fármaco mediado por la P-gp. Sin embargo, son necesarios otros estudios in vitro e in vivo para confirmar la relevancia clínica potencial de estos hallazgos. ⁽⁷⁾

Los resultados de actividad contra el virus del dengue (DENV) obtenidos en este trabajo han demostrado el potencial que encierra esta planta para la obtención de un posible fármaco antiviral contra DENV a partir de una evaluación más detallada de sus fracciones y compuestos aunque se requieren más investigaciones con el objetivo de profundizar en los mecanismos de acción y en la naturaleza de la interacción que puede existir entre los flavonoides aislados, los cuales mostraron gran potencial antiviral. En el presente estudio para

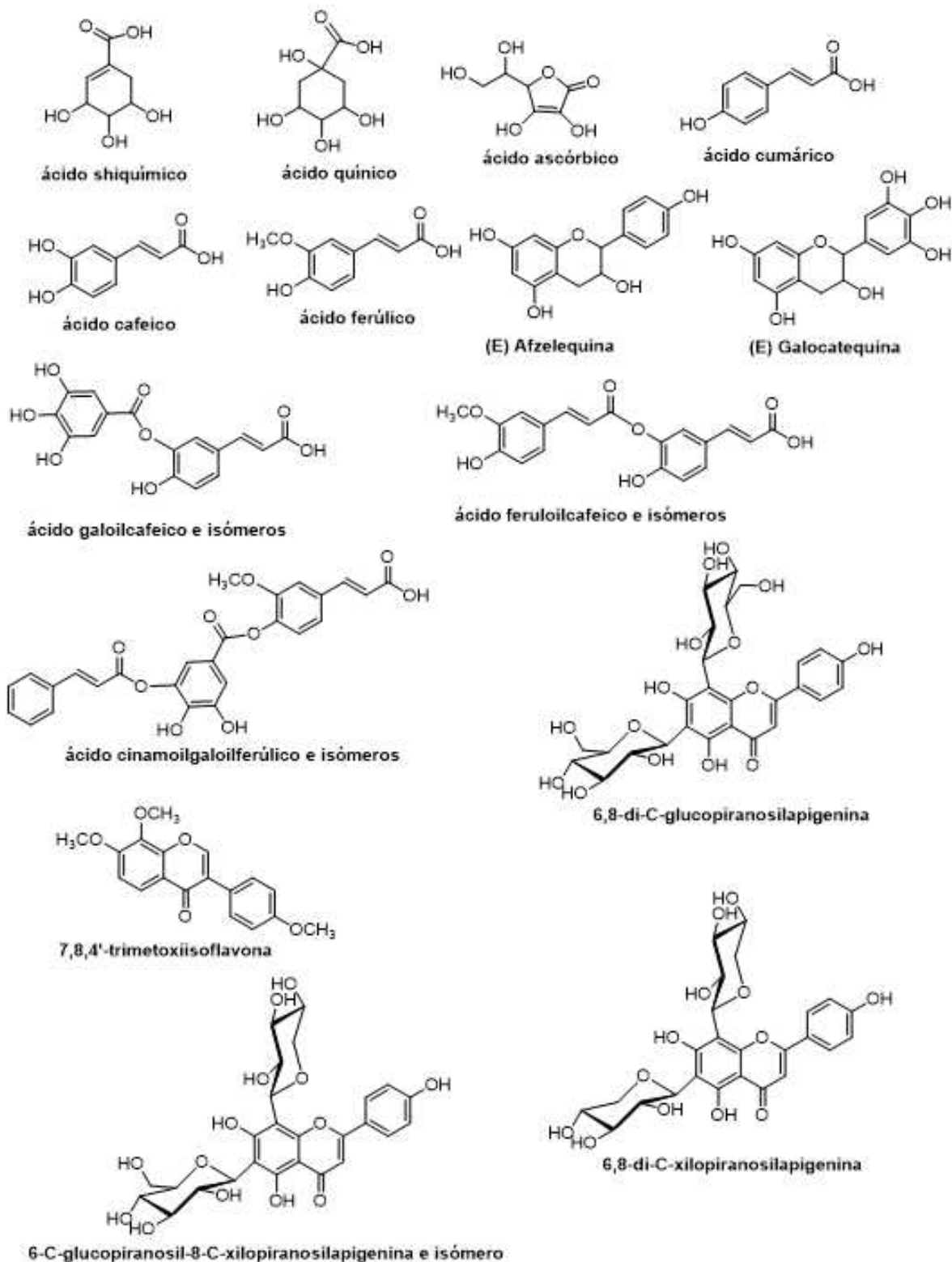


Fig. 5. Estructura de los compuestos identificados en el extracto de polifenoles de *Mucuna pruriens* (L) DC. vc. utilis.

la sakuranetina y 7-metoxiaromadendrina, se registró un porcentaje de reducción de la productividad vírica superior a 50 % a partir de la mínima concentración evaluada. Los datos obtenidos demuestran por primera vez la acción antiviral contra

DENV de los flavonoides sakuranetina y 7-metoxiaromadendrina, los que resultan adicionalmente novedosos desde el punto de vista de actividad biológica. El hallazgo de actividad de los diferentes extractos de *Ageratina havanensis* (Kunth) R.

M. King & H. Rob frente al DENV constituye un resultado significativo, teniendo en cuenta la importancia epidemiológica de esta infección, sus niveles, hospitalización y posibles complicaciones. ⁽¹³⁾

Para neutralizar los daños del estrés oxidativo en animales se utilizan los antioxidantes presentes en algunos alimentos como los polifenoles naturales. Así, las leguminosas tropicales, además de ser excelente fuente de nutrientes, también proporcionan este tipo de compuestos, tal es el caso del género mucuna con un alto potencial nutricional para la alimentación animal.

El alto valor nutricional y nutracéutico de la harina de *Mucuna pruriens* (L) DC. *vc. utilis* pudiera favorecer el control de la salud en los animales, así como mejorar su productividad y bienestar. Los resultados de la actividad antioxidante señalan que es posible utilizar en la dieta de las ratas la harina de forraje y su extracto de polifenoles con efectos antioxidantes similares a los que manifiesta la dieta control, que utiliza antioxidantes sintéticos, vitaminas y minerales. El contenido de polifenoles identificados mediante espectrometría de masas en tándem (FIA/ESI/MSn) justifica este resultado. ^(8,9)

Coccoloba cowellii Britton es una planta endémica de las sabanas serpentínicas de la provincia de Camagüey, conocida localmente como uverillo y moco de guanajo, del cual no aparece ningún reporte en la literatura acerca de su fitoquímica y actividad biológica. En este trabajo se determinó la composición química cualitativa y cuantitativa (contenido de compuestos fenólicos, taninos y flavonoides totales), así como la actividad antioxidante *in vitro* de un extracto etanólico de las hojas de *Coccoloba cowellii* (Polygonaceae). La actividad antioxidante encontrada es consistente con el contenido de compuestos fenólicos, taninos y flavonoides totales del extracto. Los compuestos fenólicos tienen propiedades redox, que les permiten actuar como antioxidantes. Como su capacidad de captación de radicales libres se ve facilitada por sus grupos hidroxilo, la concentración fenólica total podría usarse como base para la detección rápida de la actividad antioxidante. La actividad antioxidante de los flavonoides, incluyendo flavonas, flavonoides y taninos condensados, está relacionada con la presencia de grupos OH libres, especialmente 3-OH. Los flavonoides vegetales tienen actividad antioxidante *in vitro* y también actúan como antioxidantes *in vivo*. ⁽¹⁰⁾

Los enterovirus (EV) incluyen más de 200 tipos de virus antigénicamente diferentes que infectan vertebrados. Las algas pardas son fuentes de compuestos activos con propiedades antivirales. La actividad antiviral del extracto hidroalcohólico de *S. fluitans* frente a los virus estudiados se relaciona con la presencia de tipos de metabolitos previamente informados por poseer propiedades biológicas como: taninos, quinonas, proantocianidinas, catequinas, azúcares reductores y polisacáridos de alto peso molecular. Esta investigación representa

el primer estudio preliminar que establece la actividad antiviral de *Sargassum fluitans* contra echovirus 9, coxsackievirus A16 y coxsackievirus A24. ^(11,12)

Conclusiones

El equipo de investigadores del Centro de Estudios de Productos Naturales ha realizado una labor sistemática en el estudio fitoquímico de diversas especies de plantas que crecen en Cuba con vistas a la extracción, aislamiento, purificación y caracterización de metabolitos secundarios presentes en las mismas; así como en el estudio biodirigido de los extractos, fracciones y compuestos puros, en la búsqueda de sustancias bioactivas de potencial uso farmacológico o nutracéutico. En este trabajo se presentaron los resultados obtenidos en 4 especies de plantas superiores y un alga marina, en cuanto al estudio fitoquímico de los extractos de las mismas basado fundamentalmente en la identificación de polifenoles por espectrometría de masas en tandem (ácidos fenólicos, monómeros, proantocianidinas, flavonoides y sus glicósidos), aislamiento y caracterización por técnicas cromatográficas y espectroscópicas de flavonoides y una lactona sesquiterpénica novedosa para la ciencia, así como la cuantificación de varios tipos de metabolitos en algunas de las plantas estudiadas. Las actividades farmacológicas ensayadas fueron: antioxidante, efecto sobre la función de la glicoproteína Pgp y antivirales. También se evaluó el efecto nutricional de la harina de forraje de mucuna y su actividad antioxidante, resultado que permite justificar su empleo como alimento animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mc Chesney JD, Venkataraman SK, Henri JT. Plant natural products: Back to the future or into extinction? *Phytochemistry [Internet]*. 2007 [citado 09 may 2023];68(14):2015-22. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17574638/>
2. Gagnier JJ, Boon H, Rochon P, Moher D, Barnes J, Bombardier C. Recommendations for reporting randomized controlled trials of herbal interventions: Explanation and elaboration. *Journal Clinical Epidemiology [Internet]*. 2006 [citado 15 ene 2023]; 59(11):1134-49. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17027423/>
3. Cabrera GM. Mass spectrometry in the structural elucidation of natural products: Glycosides. *Phytochemistry: Advanced Research [Internet]*. 2006 [citado ene 2019]:1-22. Disponible en: <https://citeseeerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=A6A7065B6652159C4F62DF8A2F26BB29?-doi=10.1.1.613.1178&rep=rep1&type=pdf>
4. Li HJ, Deinzer ML. Tandem mass spectrometry for sequencing proanthocyanidins. *Analytical Chemistry [Internet]*. 2007 [citado 14 dic 2022];79(4):1739-48. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17297981/>
5. Pino LL, García TH, Delgado-Roche L, Rodeiro I, Hernández I, Villegas W, Spengler I. Polyphenolic profile by FIA/ESI/IT/ MSn and antioxidant capacity of the ethanolic extract from the barks of

- Maytenus cajalbanica (Borhidi & O. Muñiz). Natural Product Research [Internet]. 2019 [citado 15 mar 2021];34(3):1-5. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/330345969_Polyphenolic_profile_by_FIAESIITMS_n_and_antioxidant_capacity_of_the_ethanolic_extract_from_the_barks_of_Maytenus_cajalbanica_Borhidi_O_Muniz_Borhidi_O_Muniz
6. García TH, Quintino da Rocha C, Dias MJ, Pino LL, del Barrio G, Roque A, Pérez CE, Campaner dos Santos L, Spengler I, Vilegas W. Comparison of the Qualitative Chemical Composition of Extracts from *Ageratina havanensis* Collected in Two Different Phenological Stages by FIA-ESI-IT- MSn and UPLC/ESI- MSn: Antiviral Activity. Natural Products Communications. 2017 [citado 02 may 2020];12(1):31-34. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30549819/>
 7. García TH, Quintino da Rocha C, Delgado-Roche L, Rodeiro I, Ávila Y, Hernández I, Cuellar C, Paz Lopes MT, Vilegas W, Auriemma G, Spengler I, Rastrelli L. Influence of the Phenological State of in the Antioxidant Potential and Chemical Composition of *Ageratina havanensis*. Effects on the P- Glycoprotein Function. Molecules [Internet]. 2020 [citado 25 dic 2020];25(9):2134. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7248889/>
 8. Scull Rodríguez I, Savón Valdés L, Spengler Salabarría I, Herrera Villafranca M. Evaluation of the antioxidant and hepatoprotective activity of *Mucuna pruriens* (L) cv. utilis forage meal and their polyphenols extract in Sprague Dowley rats. Revista Cubana de Ciencias Agropecuarias [Internet]. 2020 [citado 20 jul 2023]; 54(22). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2079-34802020000200243&script=sci_abstract&tlng=en
 9. Scull Rodríguez I, Savón Valdés L, Spengler Salabarría I, Herrera Villafranca M, González Canavaciolo VL. Potentiality of the forage meal of *Stizolobium niveum* and *Stizolobium aterrimum* as a nutraceutical for animal feeding. Revista Cubana de Ciencias Agropecuarias [Internet]. 2018;52(2):1-12. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2079-34802018000200223
 10. Méndez-Rodríguez D, Molina-Pérez E, Spengler-Salabarría I, Escalona-Arranz JC, Cos P. Chemical composition and antioxidant activity of *Coccoloba cowellii* Britton. Revista Cubana de Química [Internet]. 2019 [citado 10 feb 2021];32(2):185-98. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/333486444_Chemical_composition_and_antioxidant_activity_of_Coccoloba_cowellii_Britton
 11. Ponce Rey LR, del Barrio Alonso GC, Spengler Salabarría I, Resik Aguirre S, Roque Quintero A. Evaluation of the antiviral activity of the brown alga *Sargassum fluitans* against Echovirus 9. Revista Cubana de Medicina Tropical [Internet]. 2018;70(2):1-10. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/329129410_Evaluation_of_the_antiviral_activity_of_the_brown_alga_Sargassum_fluitans_against_Echovirus_9
 12. Ponce Rey LR, Spengler Salabarría I, Rodeiro Guerra I, Roque Quintero A, del Barrio Alonso GC, Resik Aguirre S. Antiviral activity of *Sargassum fluitans* seaweed against echovirus 9, coxsackievirus A16 and coxsackievirus A24. Revista de Investigaciones Marinas [Internet]. 2021 [citado dic 2022]; 41(1):58-71. Disponible en: <https://revistas.uh.cu/rim/article/view/5053>
 13. del Barrio Alonso GC, Jardines Figueredo Y, Spengler Salabarría I, García Pérez TH, Roque Quintero A, Alvarez Vera M. Evaluación preliminar de la actividad de *Ageratina havanensis* contra virus dengue 2. Revista Cubana de Medicina Tropical [Internet]. 2021 [citado 23 feb 2023];73(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602021000100004

Recibido: 12/09/2023

Aprobado: 12/10/2023

Agradecimientos

Agradecemos a los colaboradores de este trabajo que contribuyeron significativamente a la realización del mismo: Caridad E. Pérez, Wagner Vilegas, Claudia Quintino da Rocha, Marcelo J. Díaz, Enrique Molina-Pérez, Livan Delgado-Roche, Miriam Teresa Paz López, Luca Rastrelli, Giulia Auriemma, Lourdes Campaner dos Santos, Yaiser Ávila, Cindel Cuellar, Magaly Herrera Villafranca, Víctor Luis González Canavaciolo, Julio César Escalona-Arranz, Paul Cos, Sonia Resik Aguirre.

También agradecemos a la Dr. C. Olga Valdés del Instituto de Ciencias del Mar por la donación del extracto hidroalcohólico del Sargazo. La línea celular de mosquito *Aedes albopictus* C6/36-HT, sublínea de la C6/36 (ATCC CRL 1660) fue donada al Laboratorio de cultivos celulares del Departamento de virología del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, por Javier Díaz del Laboratorio Departamental de Medellín, Colombia y la línea BHK21 clono-15 fibroblastos de riñón de hámster sirio recién nacido fue donada por Scott B. Halstead.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses en relación con la investigación presentada.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez
 Curación de datos: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez
 Análisis formal: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez
 Adquisición de fondos: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez, Idania Scull Rodríguez, Gloria del Barrio, Idania Rodeiro Guerra, Daniel Méndez-Rodríguez

Investigación: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez, Idania Scull Rodríguez, Lourdes Savón Valdés, Gloria del Barrio, Annele Roque, Idania Rodeiro Guerra, Ivones Hernández-Balmeaseda, Liudis L. Pino, Liena de Regla Ponce Rey, Daniel Méndez-Rodríguez
 Metodología: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez, Idania Scull Rodríguez, Gloria del Barrio, Idania Rodeiro Guerra, Daniel Méndez-Rodríguez

Administración del proyecto: Iraidá Spengler Salabarría, Gloria del Barrio, Idania Rodeiro Guerra

Recursos: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez, Idania Scull Rodríguez, Gloria del Barrio, Idania Rodeiro Guerra, Daniel Méndez-Rodríguez

Software: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez, Idania Scull Rodríguez, Lourdes Savón Valdés, Gloria del Barrio, Annele Roque, Idania Rodeiro Guerra, Ivones Hernández-Balmeaseda, Liudis L. Pino, Liena de Regla Ponce Rey, Daniel Méndez-Rodríguez

Supervisión: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez
 Validación: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez, Idania Scull Rodríguez, Gloria del Barrio, Idania Rodeiro Guerra, Daniel Méndez-Rodríguez

Visualización: Iraidá Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez

Redacción-borrador original: Iraida Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez

Redacción-revisión y edición: Iraida Spengler Salabarría, Trina Haydee García Pérez

Financiamientos

Para la realización de este trabajo de investigación el Centro de Estudios de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad de La Habana, así como las demás entidades participantes ofrecieron sus laboratorios y recursos. La investigación estuvo financiada por el Proyecto de la Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nivel superior (CAPES) de Brasil y el Ministerio de Educación Superior (MES) de Cuba: Uso sostenible de la biodiversidad cubana y brasileña. Potencialmente bioactivo: productos naturales de plantas superiores (proceso No. 122/11); Beca de Postgrado CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil)-TWAS (The World Academy of Sciences). Campus Experimental Campus de Sao Vicente, Universidad Estatal Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Sao Vicente, Sao Paulo, Brasil; Programa de investigación visitante (Proyecto de investigación PVE, No.400768/2014-3), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil y la Cooperación Belga para el Desarrollo a través del VLIR-UOS (Vlaamse Interuniversitaire Raad University Development Cooperation), Consejo Flamenco Interuniversitario-Cooperación

Universitaria para el Desarrollo, en el contexto de la Instalación de un centro de excelencia en la región Centro-Este de Cuba para mejorar la producción e investigación en plantas bioactivas con la Universidad de Camagüey y el Programa de Cooperación Universitaria Institucional con la Universidad de Oriente, especialmente a través del proyecto P-3 Productos Biofarmacéuticos de Fuentes Naturales en el Desarrollo de la Biotecnología.

Cómo citar este artículo

Spengler Salabarría I, García Pérez TH, Scull Rodríguez I, Savón Valdés L, del Barrio G, Roque *et al.* A. Polifenoles potencialmente activos identificados en extractos de plantas de la flora cubana. An Acad Cienc Cuba [Internet] 2023 [citado en día, mes y año]; 13(4):e1493. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1493>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).

© Los autores, 2023.

