







Estudio Fitoquímico de Endemismos Canarios.

Valorización de Compuestos Naturales

Artemisia thuscula:

estudio fitoquímico y

actividad antibacteriana

Clara Pegoraro

Tutora: Dra. Sandra Dévora Gutiérrez Co-tutor: Dr. Ignacio Brouard Martín

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Facultad de Farmacia

Dpto. De Farmacologia

INSTITUTO DE PRODUCTOS NATURALES Y AGROBIOLOGÍA (IPNA-CSIC)

Grupo de Fitoquímica Aplicada

Fecha: 28 de febrero de 2019

Abstract

The utilization of herbs for medicinal purposes started in the early history of mankind several thousand years ago. In this study, an endemic plant of Canary's islands such as *Artemisia thuscula Cav. (Asteraceae)* was screened for its phytochemical and antibacterial properties. For this purpose, this plant was extracted in different solvents i.e. acetone, dichloromethane, methanol/water, hexane and ethyl acetate and with different extraction methods such as maceration and sonication. The study involves the preliminary screening, quantitative determination and the qualitative thin layer chromatographic separation of secondary metabolites from the root, bark, leaf and flower. Furthermore, a comparation of the phytochemical profile between wild plants and the greenhouse ones took place.

Phytochemical analysis unveiled the existence of different bioactive compounds in these extracts. Also, thin layer chromatography and NMR analysis of certain active extracts demonstrated the presence of common phytocompounds in the plant extracts.

Antibacterial activity was determined against indicated bacterial strains (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Campylobacter jejuni) among all extracts, steam greenhouse ones had maximum inhibition against S.aureus. The following essays showed that the responsible of the antibacterial activity was one of the fractions that we separated in the chromatography column.

Furthermore, some of roots, flower and leaf extracts showed several levels of antimicrobial activity against at least, one of the bacterial lines.

In conclusion, in future studies the compounds with the biological activity could be identified, isolated and pharmacologically tested.

Índice:

ntroducciónntroducción	5
Características botánicas	5
Historia y uso tradicional	7
Fitoquímica	7
Objetivos	7
Material y métodos	8
Tipo de investigación	8
Procedimientos	9
Extracción por maceración	9
Extracción por sonicación	10
Evaluación de la actividad antibacteriana	11
Resultados y discusión	12
Estudio fitoquímico	12
Estudio de actividad biológica	17
Planta salvaje	17
Plantas de invernadero	19
Conclusiones	21
Fitoquímica:	21
Actividad antibacteriana	22
Bibliografía	23

Introducción

Artemisia thuscula, vulgarmente conocida como incienso canario, es una planta endémica de las Islas Canarias tradicionalmente utilizada como remedio para una amplia variedad de problemas de salud.¹

En medicina tradicional, la infusión ha sido utilizada para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, así como como expectorante y anticatarral. ² Además, se le han atribuido actividades tan diversas como la de ser repelente para insectos y antidiabética.¹

Los principales estudios realizados se han centrados en los aceites esenciales ya que el incienso canario presenta un alto contenido en dichos compuestos, por otro lado, también ha sido investigado el extracto acuoso de la parte aérea que ha sido la forma tradicional de uso en la medicina popular.^{1,3}

Características botánicas

Artemisia Thuscula Cav., durante mucho tiempo conocida como Artemisia canariensis (Bess) Lessing, pertenece a la familia Asteraceae.⁴

Es una especie endémica en las Islas Canarias donde crece principalmente en las zonas templadas y a lo largo de las costas, adaptándose perfectamente a los diferentes climas de semiárido a húmedo, típicos del archipiélago (Imagen 1).⁵

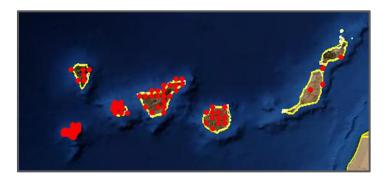


Imagen 1 - Distribución de A. thuscula (Paula Sainz et al., 2017).

Esta especie vegetal se caracteriza por ser un arbusto de color gris verdoso muy ramificado, de hasta un metro de altura; las hojas ricamente peltadas con hábito alternativo tienen dimensiones que van desde los 3 hasta los 7 cm. Las inflorescencias son densas y agrandadas con cabezas de flores de color amarillo dorado compuestas de todas las flores tubulares. Presenta tomentosas brácteas involúcrales, las interiores con bordes escariosos.⁶ (Imagen 2)

Libera un olor intenso y característico debido a la abundante presencia de aceites esenciales contenidos en hojas y flores.⁷





Imagen 2 - Artemisia thuscula plantas salvajes.(Fuente: Clara Pegoraro)

Historia y uso tradicional

En medicina popular, *A. thuscula* ha sido utilizada para una amplia variedad de problemas de salud y, principalmente, para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. Estaba recomendada como tónico digestivo, estomacal, carminativo y también como antidiarreico.¹ Fue, probablemente, el fuerte aroma emanado del follaje y de todo el cuerpo aéreo de la planta lo que justificó su uso como remedio expectorante y anticatarral⁸. Además, se le ha atribuido actividad antidiabética, así como repelente de insectos. ¹

Tradicionalmente, se utiliza la parte aérea preparada a través de infusión o decocción y, menos frecuentemente, preparaciones para uso externo para aliviar la inflamación de contusiones.⁸

<u>Fitoquímica</u>

A pesar de la gran variedad de usos tradicionales, *A. thuscula* está todavía poco investigada. Hasta ahora, los estudios de esta especie han confirmado las actividades diuréticas del extracto acuoso ¹ y la antiespasmódica del aceite esencial.²

Los principales metabolitos secundarios estudiados son los terpenos, en particular, monoterpenos y lactonas sesquiterpénicas, constituyentes principales del aceite esencial. Los compuestos aislados de *A.thuscula* pertenecientes a esta familia son esencialmente: tauremisina, tabarina, acetiltabarina, 4-epivulgarina, vulgarina, heliangolidina, 11,13-dihidrosantamarina y 11,13-dihidroreinosina. También se han aislado dos componentes principales de la familia de las cumarinas (isopimpinelina y herniarina). ⁶

La presencia de compuestos fenólicos (catequina, quercetina, ácido gentísico) queda manifiesta en otro estudio ⁹ que los relaciona con la actividad antioxidante de la planta.

Objetivos

El presente trabajo tiene como objetivos:

- Preparación de extractos de A. thuscula.
- Fraccionado y estudio de su perfil químico general.
- Estudio de los extractos de A. thuscula obtenidos a través de diferentes métodos de extracción y con varios disolventes, siendo éstos: (hexano, acetato de etilo, diclorometano, metanol:agua(1:1), acetona).
- Comparación entre los extractos de flores, hojas, tallos y raíces de A. thuscula.
- Estudio fitoquímico de la raíz.
- Comparación en la composición fitoquímica entre plantas obtenidas de la recolección de ejemplares salvajes con respecto a los especímenes cultivados en invernadero.
- Estudio de la actividad antibacteriana de las muestras de los extractos como de las fracciones purificadas con la finalidad de determinar el disolvente que permite obtener el extracto con mejor actividad, la parte de la planta más rica en compuestos activos y eventuales diferencias significativas entre plantas salvajes y de invernadero.

Material y métodos

Tipo de investigación

La investigación a desarrollar es de tipo experimental debido a que se va a realizar el estudio fitoquímico de *A. thuscula*, obtención de los extractos totales y la evaluación de la actividad antibacteriana mediante modelos *in vitro*.

Procedimientos

Se siguieron dos diferentes protocolos extractivos:

Extracción por maceración:

 El material de partida consistió en veinte plantas recolectadas en el municipio de Tacoronte (Tenerife, Islas Canarias, España) en el mes de septiembre. Se obtuvo una muestra completa de hojas, flores, tallos y raíces; los ejemplares estaban en

buenas condiciones, libres de daño por insectos, hongos o enfermedades.

- Se separaron manualmente las partes de las plantas (hojas, tallos, raíces y flores) y se trocearon.
- Por último, se dejaron secar a temperatura ambiente a la sombra (aprox. 25 °C) durante tres días, aireando con frecuencia para prevenir infección por hongos.
 Cada parte se pesó después del período de secado para evaluar el porcentaje de humedad:

✓ Hojas: 21 %

✓ Tallos: 26,5 %

✓ Raíces: 23,4 %

✓ Flores: 2,5 %

- Se procedió a la extracción por maceración primero con acetona y, seguidamente, con diclorometano durante 24 horas (2 veces).
- Se filtró el extracto y se pesó en matraces obteniendo:
 - ✓ 28 g de extracto a partir de 250 g de hojas secas
 - √ 17 g de extracto a partir de 450 g de tallos secos
 - √ 3 g de extracto a partir de 150 g de raíces secas
 - √ 800 mg de extracto a partir de 50 g de flores secas
- 0,5 1 g de extracto de cada parte se fraccionó en columna de silica gel con disolventes de polaridad creciente (desde hexano 100 % hasta acetato de etilo 100 % y, a continuación, se eluyó con mezclas de acetato de etilo / metanol. Se obtuvieron 9 fracciones del extracto de hojas, 4 fracciones del tallo, 8 fracciones de la flor y 5 fracciones de la raíz.

- Las fracciones se analizaron mediante cromatografía en capa fina con eluyentes a polaridad crecientes (acetato de etilo /hexano 10 %; 30 % y 50 %) y se revelaron haciendo uso de una lámpara UV, OLEUM y/o ácido fosfomolíbdico.
- Finalmente, el estudio de su perfil químico se realizó por Resonancia Magnética
 Nuclear.

Extracción por sonicación

- El material de partida consistió, por un lado, en planta salvaje que fue recolectada en el municipio de Tacoronte (Tenerife, Islas Canarias, España), en el mes de noviembre. Por otro lado, también se utilizó planta cultivada en invernadero. Todas las plantas recolectadas, tanto procedentes de invernadero cuanto las salvajes, no contenían flores.
- Se separaron manualmente las partes de las plantas (hojas, tallos, raíces) y se sometieron a un proceso de secado mediante el uso de una estufa con temperatura de 38 °C durante 48 horas.
- Una vez el material seco, se troceó fino (las hojas se trocearon en mortero mientras que las partes duras como son tallos y raíces se trocearon con molinillos eléctricos).
- Se pesaron 4 g de muestra molida de cada una de las partes de las plantas salvajes y de invernadero.
- Se procedió a extraer por sonicación (Sonicador J.P Selecta Ultrasons) durante
 30 minutos siguiendo dos protocolos:

1. Extracción con acetona y diclorometano:

- a) Se extrajo con 60 ml de acetona durante 30 min (3 veces).
- b) Los extractos se filtraron en matraces y se concentraron a presión reducida.
- c) El mismo material vegetal se extrajo con 60 ml de diclorometano durante 30 min. (3 veces).
- d) Los extractos se filtraron en matraces y se concentraron a presión reducida.

e) El extracto que demostró mayor actividad en el ensayo de actividad antibacteriana (tallo de planta de invernadero extraído en acetona) se fraccionó en columna con disolventes de polaridad creciente (dese hexano 100 % hasta acetato de etilo 100 %) y, a continuación, se eluyó con mezclas de acetato de etilo/metanol de polaridad creciente obteniendo 4 fracciones.

2. Extracción con metanol:agua 1:1, acetato de etilo, hexano

Para el segundo protocolo se siguieron los pasos a, b, c, d del precedente usando como disolventes metanol:agua 1:1 y, a continuación, acetato de etilo.

Posteriormente, se procedió extrayendo con 40 ml de hexano durante 30 min (3 veces).

- Finalmente, los extractos se analizaron por cromatografía en capa fina con eluyentes a polaridad crecientes (acetato de etilo/hexano 30%; 50%) y revelando por lámpara UV, OLEUM y/o ácido fosfomolíbdico.
- Para completar, el perfil químico se realizó por Resonancia Magnética Nuclear.

Evaluación de la actividad antibacteriana

La prueba de screening antimicrobiano consistió en ensayar cada una de las muestras disueltas, según su solubilidad, en DMSO (dimetilsulfóxido) o en agua a una concentración determinada frente a una batería de microorganismos. Se trató de una prueba de sensibilidad antimicrobiana (prueba en "halo"), los compuestos que tenían actividad antimicrobiana presentaron un halo de inhibición de crecimiento del microorganismo en la placa. Si, por el contrario, no tenían actividad, no presentaban halo y se veía de la misma manera que el control negativo de nuestro ensayo.

Los microorganismos frente a los que se ha ensayado son: *Escherichia coli,* Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa y Campylobacter jejuni.

Procedimiento:

- 1. Se sembraron en placas de Petri con medio Mueller-Hinton Agar cada uno de los cultivos bacterianos para aislar colonias.
- 2. Se incubaron a 37 °C durante 24 horas.
- A partir de dos o tres colonias aisladas se hizo un cultivo líquido de Müller-Hinton.
- 4. Se incubaron agitándolos a 37 °C durante 24 horas.
- 5. Los cultivos bacterianos en medio líquido se diluyeron hasta 0,5 McFarland y se sembraron 100 μL de cada cultivo en nuevas placas de Mueller-Hinton Agar.
- 6. Se incubaron a 37 °C durante 30 minutos.
- 1 μL de los extractos se agregó a cada una de las placas además de un control positivo (un antibiótico específico para cada bacteria) y un control negativo (disolvente puro).
- 8. Se dejó incubando durante 24 horas.
- 9. Se observó la presencia de halos de inhibición.

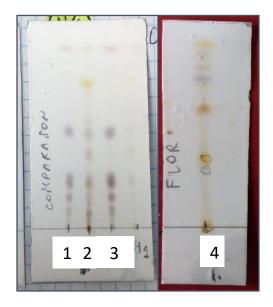
Se procedió con un fraccionamiento en columna del extracto que mostró mayor actividad frente a *S. aureus* (extracto de tallo en acetona) del cual se obtuvieron cuatro fracciones que se ensayaron frente al mismo microrganismo con el fin de observar si hubiese alguna fracción responsable de la actividad o si, en cambio, el extracto total fuese el más activo. En esta prueba se utilizó como control positivo el extracto total mientras que, como control negativo, el mismo DMSO.

Resultados y discusión

Estudio fitoquímico

Dentro del estudio fitoquímico las cromatografías por capa fina nos han permitido observar que los extractos de las diferentes partes de planta contienen

compuestos muy parecidos, aunque observamos que los de hojas y flores tenían un perfil más complejo (Imagen 3).



- 1: Extracto de raíz
- 2: Extracto de hojas
- 3: Extracto de tallo
- 4: Extracto de flor

Imagen 3 - Comparación de extractos por cromatografía en placa fina.

Los diferentes disolventes utilizados han permitido llevar a cabo extracciones selectivas de cada una de las partes de la planta (Imagen 4). La cantidad de extracto obtenido con cada una de ellas se observa en la Tabla 1. Las diferencias, en cuanto a compuestos, se observaron en la placa fina, aunque algunos compuestos prioritarios se pudieron ver en todos los extractos independientemente del disolvente utilizado (Imagen 5).

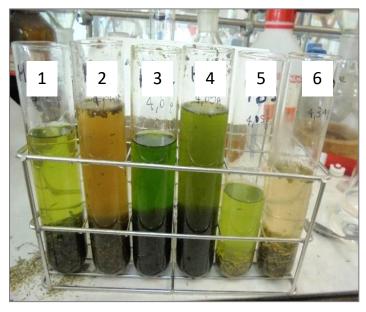


Imagen 4 - Extracción por sonicación con diferentes disolventes.

- 1: extracto de hojas de plantas salvajes en acetona
- 2: extracto de hojas de plantas salvajes en metanol:agua (1:1)
- 3: extracto de hojas de plantas de invernadero en acetona
- 4: extracto de hojas de plantas de invernadero en metanol:agua (1:1)
- 5: extracto de tallos de plantas de invernadero en acetona
- 6: extracto de tallos de plantas en invernadero en metanol/agua



- 1: Extracto de plantas salvajes obtenido por maceración
- 2: Extracto de plantas salvajes obtenido por sonicación
- 3: Extracto de plantas de invernadero obtenido por sonicación

Imagen 5 - Extractos de hojas en acetona.

Tabla 1- Cantidad de extracto obtenido con cada muestra en miligramos.

	Acetona	Diclorometano	Metanol:Agua(1:1)	Acetato	Hexano		
				de etilo			
		Raíce	s				
Planta salvaje	80,0	6,3	280,0	42,0	7,0		
Planta de	33,0	6,0	90,0	31,0	14,0		
invernadero							
	Tallos						
Planta salvaje	170,6	14,4	370,0	47,4	8,0		
Planta de	62,5	9,8	172,6	29,4	8,9		
invernadero							
	Hojas						
Planta salvaje	373,2	46,8	625,9	198,3	30,8		
Planta de	288,4	58,2	986,4	95,7	47,5		
invernadero							

El estudio estructural por medio de Resonancia Magnética Nuclear confirmó que diferentes disolventes permiten obtener extractos selectivos. Asimismo, se observó que los extractos que muestran actividad antibacteriana contienen productos que responden a compuestos alifáticos y/o aromáticos.

Entre los extractos obtenidos por maceración, los perfiles químicos de raíz y tallos son prácticamente iguales. Por otro lado, los extractos de hoja y flor son muy similares entre ellos ya que ambos presentan compuestos parecidos y que podrían corresponder a lactonas sesquiterpénicas.

Con respeto a los extractos obtenidos por sonicación, se observó que, por lo general, acetona y diclorometano permiten separar productos de naturaleza alifática y aromática mientras que la mezcla metanol/agua favorece la extracción de compuestos tipo sacáridos. Por otra parte, los extractos en hexano resultan ser los más pobres y solo en el caso de la raíz de plantas salvajes el extracto en hexano mostró un perfil aromático complejo.

A través del espectro de resonancia de los extractos que expresan actividad antibacteriana, se observa que los extractos de las hojas de plantas de invernadero dan señales de compuestos alifáticos y aromáticos, de la misma forma, los extractos de tallos en acetona y diclorometano, aunque pierden la parte aromática, son ricos en terpenos. Por el contrario, en el caso de la raíz son los extractos de plantas salvajes en metanol/agua y hexano los que presentan actividad y, aunque, el extracto en acetato de etilo dé señales de lactonas sesquiterpénicas, no demuestra actividad antibacteriana.

De las fracciones de tallo de plantas de invernadero en acetona que se separaron por cromatografía en columna de silica gel, la fracción más polar (obtenida con acetato de etilo/ hexano 45%) mostró actividad frente a *S. aureus*. Por Resonancia Magnética Nuclear se apreciaron señales compatibles con compuestos terpénicos.

En cuanto al estudio de compuestos puros, del extracto de raíces de plantas salvajes obtenido por maceración, se aislaron cinco fracciones de las cuales aquella obtenida con acetato de etilo/hexano 30% resultó pura y fue analizada por experimentos de espectroscopía de resonancia de protón y carbono (experimentos mono y bidimensionales) y de espectroscopía de masas (Imagen 6). En comparación con los datos presentes en literatura se observó que se trata de *2,3-epoxide-6,7-methylenedioixde coniferyl alcohol,* aislado y descrito por primera vez en la raíz de *Zanthoxylum chalybeum* en el 2014.¹⁰

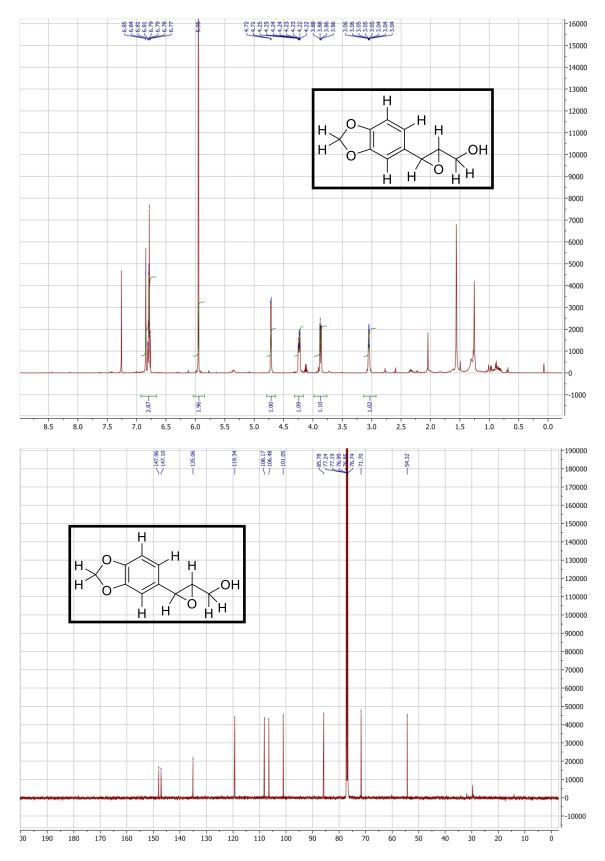


Imagen 6 - Espectro compuesto puro de raíz 2,3-epoxide-6,7-methylenedioixde coniferyl alcohol.

Estudio de actividad biológica

Planta salvaje

Los extractos de hojas y flores obtenidos por maceración presentan actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* (Tabla 2).

De las fracciones de la flor que se separaron por cromatografía en columna, dos de ellos muestran actividad: la fracción extraída con acetato de etilo/hexano 7% confirma la actividad frente a *P. aeruginosa* mientras que la fracción extraída con acetato de etilo/hexano al 70% resulta activa frente a *Staphylococcus aureus* (Tabla 3), lo cual concuerda con que el extracto total de flor también resultara activo contra dicho microrganismo, pero de forma menor.

Los extractos de la raíz en metanol/agua y en hexano resultan activos frente a Campylobacter jejuni (Tabla 4).

Los extractos de hojas y tallos de plantas salvajes extraídos por sonicación no muestran actividad relevante (Tabla 5).

Tabla 2 - Actividad del extracto de plantas salvajes frente a P. aeruginosa.

Numeración muestra	Escherichia coli	Staphylococcus aureus	Enterococcus faecalis	Pseudomonas aeruginosa	Campylobacter jejuni
Raíz	-	-	-	+	-
Tallo	-	-	-	-	-
Hoja	+	+	-	++	-
Flor	+	I	-	++	-

Tabla 3 – Actividad de los extractos de flores frente a S. aureus y P. aeruginosa.

Numeración	Escherichia	Staphylococcus	Enterococcus	Pseudomonas	Campylobacter
muestra	coli	aureus	faecalis	aeruginosa	jejuni
F2- P1	+	++	1	-	+
F2-P2	-	-	-	-	-
F2-P3	-	-	-	-	-
F2-P4	-	-	-	+	-
F2- P5	-	-	-	++	-

Tabla 4 – Actividad de los extractos de raíces frente a C. jejuni.

Muestra	Disolvente	Escherichia coli	Staphylococcus aureus	Enterococcus faecalis	Pseudomonas aeruginosa	Campylobacter jejuni
		1	Plantas salvajes		1	
RA 2.1	Metanol:Agua(1:1)	-	-	-	-	++
RA2.2	Acetato de etilo	-	-	-	-	-
RA2.3	Hexano	-	-	-	I	++
RA 1.1	Acetona	-	_	_	_	_
RA 1.2	Diclorometano	-	-	-	-	-
		Plan	ntas de invernad	lero		
RB2.1	Metanol:Agua(1:1)	-	-	-	-	_
RB2.2	Acetato de etilo	-	-	-	-	-
RB2.3	Hexano	-	+	-	+	-
RB1.1	Acetona	-	+	-		-
RB1.2	Diclorometano	-	-	-		-

Tabla 5 – Actividad de los extractos de plantas salvajes obtenidos por sonicación.

Muestra	Disolvente	Escherichia 	Staphylococcus	Enterococcus	Pseudomonas	Campylobacter
		coli	aureus	faecalis	aeruginosa	jejuni
			Hojas			
HA1.1	Acetona	+	_	_	_	_
			_	_	_	_
HA1.2	Diclorometano		-	-	-	-
HA2.1	Metanol:Agua(1:1)	-	-	-	-	-
HA2.2	Acetato de etilo	+	+	-	-	-
HA2.3	Hexano	-	-	-	1	-
Tallos						
	T		T	T	T	T
TA 1.1	Acetona	1	I	-	-	+
TA 1.2	Diclorometano	ı	-	-	-	-
TA 2.1	Metanol:Agua(1:1)	-	-	-	-	-
TA 2.2	Acetato de etilo	-	-	-	-	-
						_
TA 2.3	Hexano	-	-	-	-	-

Plantas de invernadero

Los extractos de plantas de invernadero, los de hojas y tallos en diclorometano resultaron activos frente a *S. aureus*. Los extractos de tallos en acetona y los extractos de hojas en acetato de etilo muestran actividad frente a la misma bacteria mientras que sólo los extractos de hojas resultan activos también contra *C. jejuni* (Tabla 6).

El extracto de tallo en acetona es el que expresa la mayor actividad frente a *S. aureus* (Imagen 7). Tras un fraccionamiento en columna de sílica gel de dicho extracto se pudo observar que la fracción obtenida con acetato de etilo/hexano al 45% es la que muestra actividad (Tabla 7).

Al contrario de los extractos de raíz de plantas salvajes, aquellos obtenidos de plantas de invernadero no muestran actividad relevante (Tabla 4).

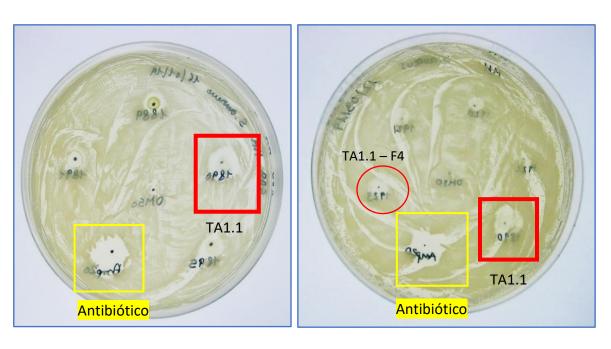


Imagen 7 - Actividad del extracto en acetona del tallo y de las fracciones frente a Staphylococcus aureus.

Tabla 6 - Actividad de los extractos de hojas y tallos de plantas de invernadero.

Muestra	Disolvente	Escherichia coli	Staphylococcus aureus	Enterococcus faecalis	Pseudomonas aeruginosa	Campylobacter jejuni
			Hojas	I		
HB1.1	Acetona	+	+	-	-	1
HB1.2	Diclorometano	+	++	I	+	++
HB2.1	Metanol:Agua(1:1)	-	-	-	-	+
HB2.2	Acetato de etilo	-	++	+	I	++
HB2.3	Hexano	I	+	-	I	+
Tallos						
TB1.1	Acetona	+	+++	-	-	-
TB1.2	Diclorometano	-	++	-	-	-
TB2.1	Metanol:Agua(1:1)	-	-	-	_	-
TB2.2	Acetato de etilo	-	+	-	-	-
TB2.3	Hexano	-	_	_	_	-

Tabla 7 – Actividad de las fracciones obtenidas de los extractos de tallo frente a S. aureus.

Muestra	Staphylococcus aureus
TB 1.1- F1	l I
TB 1.1- F2	I
TB 1.1- F3	-
TB 1.1- F4	+
TB 1.1	+
(extracto en acetona)	

Conclusiones

La conclusión general que se extrae de este estudio preliminar es que *A. thuscula* es una variedad interesante por sus potenciales actividades biológicas, de acuerdo con la sabiduría de la medicina tradicional (donde ha sido empleada por sus propiedades curativas).¹

Lo más notable es que no sólo la parte aérea de la planta (que hasta ahora ha sido la única investigada por la presencia en gran cantidad de aceites esenciales³) es útil, sino que también los extractos de tallos y raíces resultan ser activos y merecen ser estudiados más ampliamente, incluso a diferentes estadios de la vida vegetativa de la planta y en diferentes épocas del año.

Fitoquímica:

- ✓ De los métodos extractivos utilizados, la extracción por sonicación resulta más eficaz que la maceración por tiempo de extracción y por su selectividad.
- ✓ De las plantas salvajes se obtiene, en líneas generales, más cantidad de extracto con respecto a las plantas de invernadero.
- ✓ Por medio de la comparación por placa fina de los extractos correspondientes a las diferentes partes de las plantas se observa la presencia de un perfil

fitoquímico común, aunque los extractos de hojas y flores resulten más complejos.

- ✓ Las comparaciones por cromatografía en placa fina de los extractos de plantas salvajes y de invernadero no nos permiten observar grandes diferencias debido a que las clases de compuestos mayoritarios que se observan son comunes entre ambas.
- ✓ Por medio del estudio estructural por Resonancia Magnética Nuclear de protón se observó la presencia de compuestos alifáticos y/o aromáticos en aquellos extractos que mostraban actividad antibacteriana.
- ✓ Del extracto de raíces de plantas salvajes en acetona se aisló un compuesto puro que resultó ser el 2,3-epoxide-6,7-methylenedioixde coniferyl alcohol.

Actividad antibacteriana.

- ✓ Se observó actividad antibacteriana del extracto de flores de plantas salvajes obtenidos por maceración frente a *P. aeruginosa*.
- ✓ Dos fracciones del extracto de flores resultaron activas frente a *P. aeruginosa* y frente a *S. aureus*.
- ✓ Entre los extractos de hojas de plantas salvajes, solo aquellos obtenidos por maceración mostraron actividad (frente a *P. aeruginosa*).
- ✓ Entre los extractos de tallos, solo aquellos de plantas de invernadero obtenidos por sonicación mostraron actividad (frente a *S. aureus*).
- ✓ El extracto de tallos de plantas de invernadero en acetona fue el que muestró la mayor actividad (frente a *S. aureus*).
- ✓ Una sola fracción del extracto de tallo (obtenida con acetato de etilo/hexano 45%) resultó ser la responsable de la actividad frente a S. aureus.
- ✓ Entre los extractos de raíces solo aquellos de plantas salvajes obtenidos por sonicación resultaron positivos (frente a *C. jejuni*).

Bibliografía

¹ D. Benjumea a, S. A.-L.-P.-H. (2005). Diuretic activity of *Artemisia thuscula*, an endemic canary species. Journal of Ethnopharmacology 100, 205–209.

- ³ M. Perfumi, 1995. Spasmolytic Activity of Essential Oil of *Artemisia thuscula* Cav. from the Canary Islands
- ⁴ http://www.theplantlist.org/tpl/record/gcc-30143
- ⁵ Paula Sainz, Á. C.-E.-C. (2017). The genus Artemisia: distribution and phytochemistry in the Iberian Peninsula and the Canary and Balearic Islands. Phytochem Rev, 16:1023–1043.
- ⁶ Bramell, D. B. (2001). *Flores silvestres de la islas Canarias IV edicion*. Alcorón (Madrid): Editorial Rueda SL
- ⁷ Áurea Valera Molina, a. S. (2002). Investigaciones fitoquimicas en plantas canarias. Madrid: Fundacion Ramon Areces.
- 8 https://www.bienmesabe.org/noticia/2009/Julio/incienso-canario
- ⁹ Milagros Rico*, I. S. (2013). Screening of the antioxidant properties of crude extracts of six selected plant species. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 217 220.
- ¹⁰ Mathewos Anza, E. H. (2014). A coniferyl alcohol derivative from the roots of Zanthoxylum chalybeum. Journal of Coastal Life Medicine 2(12), 970-974.

² Pedro L. Perez De Paz, Consuelo. E. Hernandez Padron (1999). *Plantas medicinales o útiles en la flora canaria*. La Laguna: Frasncisco Lemus Editor.