

Artículo

Fitoquímica, antitirosinasa y antidiabetes Estudios de extractos y constituyentes químicos de *Dicerotheramnus rhinocerotis* Hojas

Olusola Ifedolapo Watti y ¹, Masande Yalo ², Rajan Sharma ², Masixole Makhaba ², Ahmed A. Hussein ²
Wilfred T. Mabusela ^{1,*}

¹ Departamento de Química, Universidad de Western Cape, Private Bag X17, Bellville 7535, Sudáfrica; 3924676@myuwc.ac.za

² Departamento de Química, Universidad Tecnológica de la Península del Cabo, Symphony Rd., Bellville 7535, Sudáfrica; yalom@cput.ac.za (MI); rajan.sharma@uct.ac.za (RS); makhabam@cput.ac.za (MM); mohammedam@cput.ac.za (AAH)

* Correspondencia: wmabusela@uwc.ac.za

[†] Dirección actual: Departamento de Medicina, División de Dermatología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Ciudad del Cabo, Ciudad del Cabo 7700, Sudáfrica.

Resumen: *Dicerotheramnus rhinocerotis* (Lf) Koekemoer, también conocido como arbusto de rinoceronte y anteriormente llamado *Elytropappus rhinocerotis* (Lf) Less., es de la familia de plantas Asteraceae. La planta se utiliza tradicionalmente para tratar la indigestión, las úlceras de estómago, la gripe y la diarrea. Este estudio tuvo como objetivo investigar los efectos fitoquímicos, antiglucosidasa, antiamilasa y antitirosinasa de *D. rhinocerotis*, ya que la investigación en esta área es limitada. Los materiales vegetales secados al aire se maceraron en metanol (MeOH) al 80% y se fraccionaron entre hexano, diclorometano (DCM), acetato de etilo (EtOAc) y butanol (BuOH). Para el aislamiento de los compuestos se empleó cromatografía en columna sobre gel de sílice. Se aislaron un total de seis compuestos (1-6) de las fracciones, a saber: acacetina (1), ácido 15-hidroxi-cis-clerodan-3-eno-18-oico (2), acacetina-7-glucósido (3), pinitol (4), apigenina (5) y β -sitosterol-3-O-glucósido (6). Los compuestos 2 a 4 y 6 se informan por primera vez de esta planta. Entre las diferentes fracciones, las fracciones BuOH y EtOAc tuvieron fuertes actividades inhibitoras de tirosinasa con valores de IC₅₀ de $13,7 \pm 1,71$ y $11,6 \pm 2,68$ μ g/mL, respectivamente, mientras que entre los compuestos aislados, la apigenina (5) tuvo la actividad inhibitora más fuerte, con una IC₅₀ de 14,58 μ M, que compite favorablemente con el ácido fólico (17,26 μ M). El ensayo antiglucosidasa mostró buena actividad en tres de las fracciones y el compuesto 5, mientras que los ensayos antiamilasa no mostraron actividad de inhibición significativa.

Palabras clave: Asteráceas; *Dicerotheramnus rhinocerotis*; fitoquímica; tirosinasa; glucosidasa; amilasa; diabetes; inhibición



Cita: Watti, OI; Yalo, M.; sharma, R.; Makhaba, M.; Hussein, AA;

Mabusela, Fitoquímica WT, Antitirosinasa

y Antidiabetes

Estudios de Extractos y Químicos

Componentes de *Dicerotheramnus*

Hojas de rinoceronte. Química 2024, 6, 546–

554. <https://doi.org/10.3390/quimica6040032>

Editores académicos: Athina Geronikaki, Cosimo D. Altomare y María

Stefania Sinicropi

Recibido: 20 de abril de 2024

Revisado: 25 de junio de 2024

Aceptado: 28 de junio de 2024

Publicado: 2 de julio de 2024



Copyright: © 2024 por los autores. Licenciatario MDPI, Basilea, Suiza.

Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y

condiciones de los Creative Commons

Licencia de atribución (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introducción

Asteraceae o Compositae (comúnmente conocida como familia del aster, la margarita, el compuesto o el girasol) es una familia muy grande y extendida de plantas con flores [1,2]. La familia tiene 34.510 nombres de especies aceptados en 1.729 géneros [3]. Varias especies de esta familia tienen propiedades medicinales conocidas. Por ejemplo, se demostró actividad antitirosinasa en *Bubonium imbricatum*, *Cladanthus arabicus*, *Achyrocline satureioides*, *Artemisia verlotiorum*, *Flourensia campestris*, *Pterocaulon alopecuroide* y *Tagetes minuta* [4], mientras que *Bubonium imbricatum* y *Cladanthus arabicus* exhiben una buena actividad antidiabética [5].

Dicerotheramnus rhinocerotis (Lf) Koekemoer, también conocido como arbusto de rinoceronte y renosterbos y anteriormente llamado *Elytropappus rhinocerotis* (Lf) Less., es una planta medicinal utilizada en la medicina tradicional africana [6,7]. La planta pertenece a la familia Asteraceae y se distribuye en Sudáfrica y Namibia [6,7]. El arbusto rinoceronte es un arbusto pequeño y de un solo tallo que alcanza una altura media de 2 m. Las ramas viejas son ásperas y tienen

incluso cortezas grisáceas. Las hojas contienen pelos blancos como plumas, lo que le da a la planta un aspecto general grisáceo [8]. En la medicina tradicional, las puntas tiernas de las ramas se utilizan para tratar la indigestión, las úlceras de estómago, la dispepsia, el cáncer de estómago y la fiebre [9,10].

Además, se utiliza como tónico amargo para estimular la pérdida de apetito y en el tratamiento de cólicos, gripe, diarrea y convulsiones en niños [11]. Además, existen informes sobre el uso tradicional de la planta para tratar la diabetes tipo 2 y reducir la presión arterial alta [9,10]. La diabetes mellitus es una enfermedad asociada con niveles elevados de azúcar en sangre, una condición en la que el cuerpo no puede controlar eficazmente el metabolismo de la glucosa, que es la principal fuente de energía. Este nivel alto de azúcar en sangre presenta como síntomas micción persistente, aumento de la sed y hambre. Los pacientes diabéticos tienen un mayor riesgo de desarrollar otros problemas de salud graves que ponen en peligro su vida, lo que resulta en mayores costos de atención médica, reducción de la calidad de vida y aumento de la mortalidad [12,13].

Datos recientes de la Federación Internacional de Diabetes (FID) estiman que el 7% de los sudafricanos entre 21 y 79 años tienen diabetes [14], siendo los factores contribuyentes el envejecimiento de la población, la transición económica y la urbanización asociada con la transición nutricional y obesidad [15,16]. Se estima que la diabetes causa alrededor de 8.000 nuevos casos de ceguera y 2.000 nuevos casos de amputaciones anualmente en Sudáfrica [17]. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) comienza con resistencia a la insulina, una condición en la que las células del cuerpo no responden bien a la insulina [18]. El tratamiento común para la diabetes incluye insulina, pramlintida y metformina. Estos medicamentos tienen efectos secundarios, que incluyen flatulencia, fatiga, náuseas, aumento de peso, hipoglucemia e infecciones genitourinarias [19]. A pesar de la disponibilidad de remedios modernos, los pacientes todavía usan medicina alternativa (hierbas), ya sea sola o junto con la medicina convencional, ya que existe un interés creciente en la medicina alternativa y complementaria, especialmente en el tratamiento de enfermedades crónicas como la diabetes [20, 21]. Se ha informado que *Dicerothamus rhinocerotis* se utiliza tradicionalmente en el tratamiento de la diabetes tipo 2 [9,10], lo que formó la base de esta investigación, es decir, para determinar la actividad de esta planta e identificar los metabolitos activos que inhiben la alfa-amilasa y la alfa-enzimas glucosidasas.

Como se señaló anteriormente, se ha informado que varios miembros de la familia Asteraceae muestran actividades antitirosinasa, pero los informes sobre *Dicerothamus rhinocerotis* son limitados. La tirosinasa es una enzima multicobre que se encuentra en los tejidos vegetales y animales y provoca el oscurecimiento de los alimentos y la producción de células de melanina en los animales. Actúa en el ciclo catalítico hidroxilando monofenoles a o-difenoles u oxidando o-difenoles a o-quinonas, que finalmente forman melanina [22,23]. Esta enzima es responsable del oscurecimiento de los hongos, los tejidos vegetales dañados y los frutos dañados durante la manipulación y el procesamiento después de la cosecha. También se dice que participa en el desarrollo y el mecanismo de defensa de los insectos en términos de producción de melanina, esclerotización, encapsulación de parásitos y cicatrización de heridas [24,25]. Las acciones desfavorables de la tirosinasa en el oscurecimiento de frutas y verduras y la hiperpigmentación de la piel humana han llevado a los investigadores a encontrar agentes antitirosinasa, también conocidos como inhibidores de la tirosinasa, especialmente en la industria alimentaria y cosmética [24]. Estos inhibidores se dirigen a las actividades de la tirosinasa, deteniendo la producción de melanina en los melanocitos. Muchas empresas de cosméticos que producen cremas para aclarar la piel utilizan estos inhibidores, ya que son los agentes blanqueadores de la piel más disponibles comercialmente [26,27]. Se ha informado que los antitirosinasa, el ácido kójico y la hidroquinona de uso común causan daño oxidativo de los lípidos y pérdida permanente de melanocitos en la piel después de un uso prolongado y, por lo tanto, se han prohibido en muchos países; por lo tanto, no se puede dejar de enfatizar la necesidad de inhibidores de la tirosinasa seguros [27].

En cuanto a la fitoquímica de la planta, se reportaron glucósidos cardíacos, taninos, saponinas y azúcares reductores [7]. Se informó que las resinas lipófilas constituían el 20% de su masa seca, mientras que el 80% del extracto crudo de materiales vegetales secos comprendía flavonas metoxiladas, cirsimaritina, hispidulina, eupafolina y quercetina [7]. También se identificaron el ácido benzoico y sus derivados (ácido protocatequico, ácido verátrico y ácido p-hidrobencicoico), así como derivados del ácido cinámico (ácido sinápico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico) [28,29]. En un estudio más reciente, 6,7-dimetoxicumarina, 4',5,7-trihidroxi-6-metoxycumarina, 5,7-dihidroxi-4'-

metoxiflavona, 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona, kaempferol, 3-metil éter, ácido (+)-13-epilabdanólico, ácido (+)-ent-labdanólico, (+)-metil 13-epilabdanolato y Se aislaron (+)-(8R,13R)-labdan-8,15-diol [30]. Además, se realizó el aislamiento de ácido (+)-13-epilabdanólico, ácido (+)-ent-labdanólico y ácido ent-labd-13-en-8-β-hidroxi-15-oico de los tallos foliares de la planta. informó [31]. Se observó que los flavonoides aislados de esta planta están metoxilados [30], mientras que el ácido rinoterotinoico muestra actividad antiinflamatoria [9-11].

Este estudio tiene como objetivo investigar los fitoquímicos de *D. rhinocerotis* y evaluar sus actividades antidiabéticas y antitirocinasa para fundamentar las afirmaciones etnofarmacológicas.

2. Materiales y métodos

2.1. Material vegetal

Las hojas de *Dicrothamnus rhinocerotis* se recolectaron el 20 de mayo de 2019 en el Jardín Botánico Nacional Kirstenbosch, Ciudad del Cabo, Sudáfrica, donde fueron identificadas por un taxónomo (número de comprobante: OW-2019-01). Se secó al aire a temperatura ambiente durante 10 días y se molió hasta convertirlo en polvo. Se pesó el material vegetal resultante.

2.2. Equipos y reactivos químicos

Los espectros de RMN (1D y 2D) se registraron en el espectrómetro de RMN Avance de 400 MHz (Bruker, Rheinstetten, Alemania) a 400 MHz y 100 MHz para protones (¹H) y carbono (¹³C), respectivamente. Los cambios químicos (δ) se informaron en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en Hz. Los valores de RMN de ¹H y ¹³C fueron relativos al estándar interno tetrametilsilano (TMS) y se adquirieron en disolventes deuterados (cloroformo, agua o DMSO). La cromatografía en columna (CC) se realizó utilizando gel de sílice de fase normal, mientras que la cromatografía en capa fina (TLC) se realizó sobre láminas de aluminio de gel de sílice (gel de sílice 60 F254, Merck, Rahway, Nueva Jersey, EE. UU.). La visualización de las manchas en las hojas de TLC se logró utilizando reactivo de ácido sulfúrico de vainillina y una pistola de calor.

2.3. Extracción y fraccionamiento del material vegetal

Dicrothamnus rhinocerotis en polvo (1,065 kg) en metanol al 80 % (6,0 L x 2) a temperatura ambiente durante 24 h, y la mezcla se filtró y se evaporó bajo presión para producir 354,69 g (~33 % , peso seco). El rendimiento consistió en una masa pegajosa (240 g) que se pegó al matraz de fondo redondo durante la evaporación (extracto crudo de MeOH) y el extracto crudo liofilizado (144,69 g). El extracto crudo seco (144,69 g) se suspendió en agua y se extrajo sucesivamente con hexano, diclorometano (DCM), acetato de etilo (EtOAc) y butanol (BuOH).

El extracto de DCM (6 g) se fraccionó adsorbiéndolo previamente en gel de sílice y usando CC mediante elución en gradiente, comenzando con hexano al 100 % y aumentando gradualmente la polaridad con EtOAc hasta el 100 %. Se utilizó EtOAc; luego se introdujo MeOH para completar la elución. Se agruparon un total de 74 fracciones recolectadas del CC en función de sus perfiles de TLC para producir tres fracciones (F1; F2 y F3). La fracción F2 (2,01 g) se fraccionó adicionalmente usando CC, dando como resultado dos compuestos: el compuesto 1, que apareció como un cristal amarillo en forma de aguja, y el compuesto 2, que apareció como cristales blancos.

El extracto de EtOAc (13 g) se preadsorbió en gel de sílice y se fraccionó usando CC mediante elución en gradiente iniciada con hexano al 100 % y aumentando gradualmente la polaridad con EtOAc hasta alcanzar el 100 % de EtOAc. Luego se introdujo MeOH para completar la elución. La recogida de eluidos dio como resultado 171 fracciones, que se agruparon en función de sus perfiles de TLC, separándolas así en 9 fracciones. El compuesto 1 se obtuvo nuevamente a partir de las fracciones F30-F42, mientras que el compuesto 5 se aisló de las fracciones F66-F73.

El extracto de BuOH (59 g) se preadsorbió en gel de sílice y se fraccionó usando CC mediante elución en gradiente iniciada con DCM al 100 % y aumentando gradualmente la polaridad con MeOH para completar la elución, lo que dio como resultado 88 fracciones. Los compuestos 3 (amarillo pálido) y 4 (blanquecino) precipitaron directamente de las fracciones F23-F24 y F43-F46 de la columna principal.

El extracto de metanol crudo (120 g) se preadsorbió en gel de sílice y se fraccionó usando CC mediante elución en gradiente (hexano: EtOAc, 100:0 → 0:100%). Esto dio como resultado el aislamiento del compuesto 6 como un precipitado blanco. También se volvieron a aislar los compuestos 1, 2 y 4.

Los rendimientos totales de los compuestos aislados fueron los siguientes: compuesto 1 (171,1 mg), compuesto 2 (3,13 g), compuesto 3 (3,4 mg), compuesto 4 (176,8 mg), compuesto 5 (24,5 mg) y compuesto 6 (53,6 gramos).

2.4. Ensayo de inhibición

antitirosinasa La inhibición de la tirosinasa de hongos de las fracciones y compuestos aislados se determinó mediante un procedimiento similar al descrito por Yalo et al. [32]. Para las fracciones, se preparó una concentración de 10 mg/ml para cada muestra disolviendo 10 mg de las muestras en 1 ml de DMSO, mientras que para los compuestos aislados y el control positivo (ácido kójico), se preparó una solución madre de 0,02 M. Las soluciones madre se diluyeron a 100 µg/ml y 200 µM para las fracciones y compuestos, respectivamente. En una placa de 96 pocillos se introdujeron 70 µL de la muestra de prueba, tras lo cual se añadieron 30 µL de L-tirosinasa (1000 unidades/mL). La solución se incubó a temperatura ambiente (25 °C) durante 20 min. Después de la primera incubación, se agregaron 100 µL de sustrato (2 mM de L-tirosina) y se incubaron durante 30 min a la misma temperatura. La absorbancia se leyó a 490 nm después de la incubación. Para el control sin enzimas, se usó un disolvente de fondo (20 µl de DMSO en 1980 µl de agua destilada) en lugar de las muestras de prueba, y se usó tampón fosfato (50 mM, pH 6,5) en lugar de la enzima. Se utilizó ácido kójico como control positivo en diversas concentraciones y todos los experimentos se realizaron por triplicado. Para determinar la CI50, se usaron varias concentraciones para cada muestra de prueba, después de lo cual los resultados se representaron en GraphPad Prism 8. El porcentaje (%) de inhibición se calculó usando la Ecuación (1).

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{(CE - C) - (SE - S)}{(CE - C)} \times \frac{100}{1} \quad (1)$$

dónde

CE: absorbancia del control con enzimas.

C: absorbancia del control sin enzimas.

SE: absorbancia de la muestra problema con enzimas.

S: absorbancia de la muestra problema sin enzima.

2.5. Ensayo de inhibición de alfa-glucosidasa

La actividad inhibidora de los extractos de plantas y compuestos aislados contra la α-glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* se determinó modificando ligeramente el método informado por Yamaki y Mori [33]. La mezcla de reacción de 50 µL de tampón fosfato (50 mM, pH de 6,8), muestra (10 µL, 200 µg/mL) y 50 µL de solución de alfa-glucosidasa (1 U/mL) se incubó a 37 °C durante 15 min en una placa de 96 pocillos. Después de la incubación inicial, se añadieron 20 µL de sustrato 5 mM, es decir, p-nitrofenil-α-D-glucopiranosido (p-NPG), a las mezclas de reacción en las placas de 96 pocillos y se incubaron a 37 °C durante 20 minutos. ; luego, la reacción enzimática se terminó agregando una solución de carbonato de sodio (Na₂CO₃) 0,1 M (50 µL). La hidrólisis enzimática del sustrato se controló mediante la cantidad de p-nitrofenol liberado en la mezcla de reacción a 405 nm utilizando un espectrofotómetro AccuReader M965 Metertech (V1.11). El control sin enzimas (C) se preparó sustituyendo la enzima por el tampón fosfato, mientras que en el control con la enzima (CE), es decir, se utilizó DMSO, que se diluyó a la misma concentración que las muestras, en lugar de la prueba. muestras. Se utilizó acarbosa a diferentes concentraciones como control positivo. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y el% de actividad inhibidora de las muestras sobre la α-glucosidasa se calculó utilizando la ecuación (1).

Los valores de CI50 de muestras con buenas inhibiciones se determinaron como se describió anteriormente.

valores de 14,58 μ M, 13,7 $\pm$ 1,71 μ g/mL y 11,66 $\pm$ 2,68 μ g/mL, respectivamente, y tenía valores de IC50 comparables a los del ácido kójico, un potente inhibidor conocido de la tirosinasa con un valor IC50 de 17,26 μ M. El compuesto 5 tuvo una actividad similar a las reportadas en la literatura, es decir, 17,3 μ M [40] y 38,5 μ M [41]. Se informó que el compuesto 1 tenía un valor IC50 superior a 2000 [42] y 700 μ M [43], mientras que el IC50 experimental observado fue 1011 μ M.

Tabla 1. Detección de actividad antitirosinasa * y valores IC50 de muestras de D. rhinocerotis.

Extractos/Compuestos	% Inhibición	IC50	
		(μ g/mL)	μ M
RDC (Crudo)	43,41	42.2	
DRH (hexano)	36,26	200.1	
DRD (DCM)	40,36	35.1	
DRE (EtOAc)	67,87	11.6	
DRB (BuOH)	44,04	13.7	
DRM (MeOH crudo) 1	50,11	57 $\pm$ 2,48	
	nd	-	1011
2	12,72	-	1552
3	30.42	-	583,3
4	30.24	-	995,6
5	67,51	-	14.58
6	37.24	-	273
ácido kójico	100	-	17.26

nd: no determinado debido a valores negativos o no replicables. Los datos se presentan como medias $\pm$ DE (estándar desviaciones). * El cribado se realizó a 100 μ g/mL para fracciones y 200 μ M para compuestos.

3.3. Ensayo de alfa-glucosidasa

La Tabla 2 muestra la inhibición de fracciones y compuestos aislados de D. rhinocerotis. contra alfa-glucosidasa a 200 μ g/ml. El compuesto 5 tuvo el porcentaje más fuerte inhibición (94,17%), mientras que no se determinó la inhibición de DRC y compuesto 3 . Sus valores negativos indican que no inhibieron la alfa-glucosidasa en esta concentración . Las fracciones DRD, DRE y DRM tuvieron valores de inhibición moderados, mientras que DRH, DRB y los compuestos 1, 4 y 6 tuvieron inhibiciones débiles. La actividad inhibidora de Los compuestos aislados de D. rhinocerotis oscilaron entre 3,74% y 94,17% para los compuestos. 2 y 5, respectivamente. El compuesto 5, debido a la hidroxilación en los anillos A y B, tuvo mayor actividad que el compuesto 1, con una sustitución de grupo metoxi en su anillo B. El más bajo La actividad del compuesto 3 en comparación con el compuesto 1 puede deberse a su glicosilación en la posición 7. Estas actividades basadas en diferencias estructurales concuerdan con las informadas en [44]. Aunque se ha informado que el compuesto 4 reduce la glucosa en sangre al aumentar la secreción de insulina en ratones, esta investigación no respalda esta afirmación [45,46]. Muestras con los valores de inhibición más altos se analizaron más a fondo para determinar sus valores de CI50 . El compuesto 5 tenía una CI50 mayor (83,01 $\pm$ 2,16 μ g/ml) que la acarbosa (130,2 $\pm$ 1,84 μ g/ml). Nuestro valor de acarbosa es similar al informado por Le Nguyen et al. [47].

Tabla 2. Actividades inhibitoras de muestras de D. rhinocerotis sobre alfa-glucosidasa y alfa-amilasa.

Extractos/Compuestos	% Inhibición	Alfa-glucosidasa	% Inhibición	Alfa-amilasa
		CI50 (μ g/mL) $\pm$ DE		CI50 (μ g/mL) $\pm$ DE
RDC (Crudo)		-		-
DRH (hexano)	6.13	-		-
DRD (DCM)	41,49	201,8 $\pm$ 2,12		-
DRE (EtOAc)	44,45	199,8 $\pm$ 2,57	3.44	-
DRB (BuOH)	9.33	-		-
DRM (MeOH crudo)	53,50	198,4 $\pm$ 2,48	5.59	-

Tabla 2. Cont.

Extractos/Compuestos	% Inhibición	Alfa-glucosidasa CI50 (µg/mL) ± DE	% Inhibición	Alfa-amilasa CI50 (µg/mL) ± DE
1	13,88	-	nd	-
2	3.74	-	nd	-
3	nd	-	nd	-
4	7.05	-	0,67	-
5	94,17	83,0 ± 2,16	7.04	-
6	3.86	-	28,56	-
acarbose	63,94	130,2 ± 1,84	88,86	20,25 ± 1,23

nd: no determinado debido a valores negativos o no replicables. DE: desviación estándar.

3.4. Ensayo de inhibición de alfa-amilasa

Como se ve en la Tabla 2, las actividades inhibitoras de todas las fracciones contra la alfa-amilasa osciló entre 0% y 5,59%, y solo la fracción de acetato de etilo y el crudo lipófilo extracto que muestra actividades de 3,44 y 5,593%, respectivamente, a una concentración de 100 µg/mL, que se utilizó para la evaluación preliminar. Las otras fracciones no mostraron ninguna actividad contra la enzima. La actividad inhibitora de los seis compuestos aislados de *D. rhinocerotis* contra alfa-amilasa a 200 µM. El compuesto 6 fue el más activo, con una inhibición del 28,563%, seguido del compuesto 5, con una actividad de 7,040%. Esto respalda la afirmación de que el compuesto 6 es un antihiper glucémico que funciona liberando insulina para regular el azúcar en sangre [R]. Los compuestos 1 y 5, a pesar de tener estructuras similares, tienen actividades inhibitoras significativamente diferentes, lo que puede deberse a el grupo metoxi en el compuesto 1 [44]. La acarbose, que se utilizó como control positivo, tuvo una actividad inhibitora del 88,86%. Aunque se informó que *D. rhinocerotis* se utilizaba tradicionalmente para el tratamiento de la diabetes [10], detección preliminar de las fracciones, así como seis compuestos aislados, no respaldan esta afirmación; por lo tanto, no se llevaron a cabo más ensayos.

4. Conclusiones

Se aislaron seis compuestos conocidos de *Dicerotheramnus rhinocerotis*, de los cuales cuatro fueron reportados por primera vez en la planta. Fracciones de EtOAc y BuOH y el crudo. El extracto de MeOH mostró actividades antitirosinasa más fuertes que otras fracciones. Del En compuestos aislados, el compuesto 5 mostró la inhibición más fuerte contra la L-tirosina. Estas fuertes actividades sugieren que esta planta puede ser investigada más a fondo para su uso en el industria cosmética ya que esta es la primera investigación reportada sobre su potencial anti-tirosinasa. El Las fracciones DRD, DRE y DRM tuvieron buenas actividades alfa-glucosidasa. El compuesto 5 también tenía una actividad inhibitora más fuerte que la acarbose, lo que respalda el efecto etnomedicinal Uso de la planta para el tratamiento de la diabetes. Aunque la planta mostró buena actividad en inhibiendo la alfa-glucosidasa, este no fue el caso de la alfa-amilasa ya que todas las muestras mostró baja actividad.

Materiales complementarios: la siguiente información de respaldo se puede descargar en: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/chemistry6040032/s1>, Tabla S1: Comparación de datos experimentales de 13C-NMR con la literatura a 100 MHz.

Contribuciones de los autores: Conceptualización, OIW y WTM; Análisis formal, OIW, MY y milímetro; Investigación, OIW, MY, RS y MM; Metodología, OIW, AAH y WTM; Supervisión, AAH y WTM; Redacción: borrador original, OIW, MY y RS; Escritura: revisión y edición, MY, RS, MM, AAH y WTM Todos los autores han leído y aceptado los términos publicados versión del manuscrito.

Financiamiento: esta investigación fue financiada por la subvención de la Fundación Nacional de Investigación de Sudáfrica. números 116101, 139209 y 106055 y el APC fue financiado por la Universidad de Western Cape (UWC) y la Universidad Tecnológica de la Península del Cabo (CPUT).

Declaración de disponibilidad de datos: Los datos experimentales generados durante esta investigación están disponibles previa solicitud del autor correspondiente.

Agradecimientos: Agradecemos a Kirstenbosch Gardens, Ciudad del Cabo, Sudáfrica, por proporcionar la planta utilizada para esta investigación.

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Referencias

1. Stevens, P. Sitio web de filogenia de angiospermas. 2001. Disponible en línea: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (consultado el 12 de abril de 2024).
2. Jeffrey, C. Compositae: Introducción con clave para las tribus. Familia. Genera Vasc. Plantas 2007, 8, 61–87.
3. WFO 2024: Asteraceae Giseke. Publicado en Internet. Disponible en línea: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000146> (consultado el 25 de junio de 2024).
4. Chiari, YO; Joray, MB; Ruiz, G.; Palacios, SM; Carpinella, MC Actividad inhibidora de tirosinasa de plantas nativas del centro de Argentina: Aislamiento de un principio activo de *Lithrea molleoides*. Química de los alimentos. 2010, 120, 10–14. [\[Referencia cruzada\]](#)
5. Aghraz, A.; Goncalves, S.; Rodríguez-Solana, R.; Ait Dra, L.; Di Stéfano, V.; Dugo, G.; Cicerón, N.; Larhsini, M.; Markouk, M.; Romano, A. Actividad antioxidante y propiedades inhibidoras de enzimas de varios extractos de dos especies de Asteraceae marroquíes. S. África. J.Bot. 2018, 118, 58–64. [\[Referencia cruzada\]](#)
6. Piscina, E.; Klaasen, A.; Shoko, Y. La toxicidad ambiental de *Dicerothamnus rhinocerotis* y *Galenia africana*. África. J. Biotecnología. 2009, 8, 4465–4468.
7. Proksch, P.; Proksch, M.; Rundel, P.; Rodríguez, E. Importancia ecológica de la química de la resina foliar de *Elytropappus rhinocerotis*. Bioquímica. Sistema. Ecológico. 1982, 10, 49–53. [\[Referencia cruzada\]](#)
8. Levyns, M. Una revisión de *Elytropappus* Cass. S. África. J.Bot. 1935, 1, 89–103.
Mitchell-Watt, J.; Breyer-Brandwijk, M. Las plantas medicinales y venenosas del sur y este de África, 2ª ed.; Livingston: Londres, 9. Reino Unido, 1962; pag. 226.
10. Davids, D.; Gibson, D.; Johnson, Q. Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas para controlar la presión arterial alta y la diabetes mellitus tipo 2 en Bitterfontein, Provincia del Cabo Occidental, Sudáfrica. J. Etnofarmacol. 2016, 194, 755–766. [\[Referencia cruzada\]](#)
11. Bremer, K. Asteraceae, Cladística y Clasificación; Timber Press, Inc.: Portland, Oregón, EE.UU., 1994; págs. 435–458.
12. Wadkar, K.; Magdum, C.; Patil, S.; Naikwade, N. Potencial antidiabético y plantas medicinales indias. J. Hierba. Medicina. Toxico. 2008, 2, 45–50.
13. Baena-Díez, J.; Peñafiel, J.; Subirana, I.; Ramos, R.; Elosúa, R.; Marín-Ibáñez, A.; Guembé, M.; Rigo, F.; Tormo-Díaz, J.; Moreno- Iribas, C.; et al. Riesgo de causa: muerte específica en personas con diabetes: un análisis de riesgos competitivos. Cuidado de la diabetes 2016, 39, 1987–1995. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Federación Internacional de Diabetes (FID). Atlas de la diabetes, 7ª ed.; Federación Internacional de Diabetes: Bruselas, Bélgica, 2015.
15. Kengne, AP; Echouffo-Tcheugui, JB; Sobngwi, E. Nuevos conocimientos sobre la diabetes mellitus y la obesidad en África, parte 1: Prevalencia, patogenia y comorbilidades. Corazón 2013, 99, 979–983. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Peer, N.; Kengne, A.; Motala, A.; Mbanya, J. Diabetes en la región de África: una actualización. Diabetes Res. Clínico. Practica. 2014, 103, 197–205. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Bertram, M.; Jaswal, A.; Van Wyk, V. La carga de enfermedades no mortales causadas por la diabetes tipo 2 en Sudáfrica. Globo. Salud Acción 2013, 6, 19244. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Shouip, H. Diabetes mellitus: signos y síntomas. Abierto J. Enfermeras. 2014, 10, 1–9.
19. Asociación Americana de Diabetes. Enfoques farmacológicos para el tratamiento glucémico. Cuidado de la diabetes 2017, 40, S64 – S74. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
20. Keskin, A.; Bilge, U. Los trastornos mentales frecuentan el uso de medicina alternativa y complementaria entre pacientes con hipertensión y diabetes mellitus tipo 2. Níger. J.Clin. Practica. 2014, 17, 717–722. [\[PubMed\]](#)
21. Bhalerao, M.; Bolshete, P.; Swar, B.; Bangera, T.; Kolhe, V.; Tambe, M.; Wade, M.; Bhowate, S.; Sonje, U.; Gogtay, N.; et al. Uso y satisfacción con la medicina complementaria y alternativa en cuatro enfermedades crónicas: un estudio transversal de la India. Nacional. Medicina. J. India 2013, 26, 75–78. [\[PubMed\]](#)
22. Zolghadri, S.; Bahrami, A.; Khan, M.; Muñoz-Muñoz, J.; García-Molina, F.; García-Cánovas, F.; Saboury, A. Un completo revisión sobre los inhibidores de la tirosinasa. J. Inhibición enzimática. Medicina. Química. 2019, 34, 279–309. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Kumar, C.; Sathisha, U.; Dharmesh, S.; Rao, A.; Singh, S. Interacción de sesamol (3, 4-metilendioxi-fenol) con tirosinasa y su efecto sobre la síntesis de melanina. Biochimie 2011, 93, 562–569. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Chang, T. Una revisión actualizada de los inhibidores de la tirosinasa. En t. J. Mol. Ciencia. 2009, 10, 2440–2475. [\[Referencia cruzada\]](#)
25. Chai, W.; Wei, M.; Wang, R.; Deng, R.; Zou, Z.; Peng, Y. Proantocianidinas de aguacate como fuente de inhibidores de la tirosinasa: caracterización de la estructura, actividad inhibidora y mecanismo. J. Agrícola. Alimento. Química. 2015, 63, 7381–7387. [\[Referencia cruzada\]](#)
26. Pillaiyar, T.; Manickam, M.; Namasivayam, V. Agentes blanqueadores de la piel: perspectiva de la química medicinal de los inhibidores de la tirosinasa. J. Enzima. Inhibir. Medicina. Química. 2017, 32, 403–425. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Liu, J. Productos naturales en cosmética. Nat. Pinchar. Bioprospectiva. 2022, 12, 40. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Germishuizen, G.; Meyer, N. Plantas del sur de África: una lista de verificación comentada; Instituto Botánico Nacional: Pretoria, Sudáfrica, 2003; Volumen 14, pág. 186.

29. Dekker, T.; Fourie, T.; Matthee, E.; Snyckers, F.; Van der Schyf, C.; Boeyens, J.; Denner, L. Estudios de plantas medicinales sudafricanas : pt. 7. Ácido rinocerotinoico: un diterpeno labdano con propiedades antiinflamatorias de *Elytropappus rhinocerotis*. S. África. J. Química. 1988, 41, 33–35.
30. Mshengu, B.; Gakuba, E.; Van Heerden, F. Componentes químicos de *Elytropappus rhinocerotis* (Lf) Less. Bioquímica. Sistema. Ecológico. 2017, 75, 18–20. [\[Referencia cruzada\]](#)
31. Hulley, I.; Van Vuuren, S.; Sadgrove, N.; Van Wyk, B. Actividad antimicrobiana de *Elytropappus rhinocerotis* (Asteraceae) contra microorganismos asociados con el mal olor de los pies y las dolencias de la piel. J. Etnofarmacol. 2019, 228, 92–98. [\[Referencia cruzada\]](#)
32. Yalo, M.; Makhaba, M.; Hussein, AA; Sharma, R.; Koki, M.; Nako, N.; Mabusela, Caracterización WT de cuatro nuevos compuestos de hojas de *Protea cynaroides* y su potencial inhibidor de tirosinasa. Plantas 2022, 11, 1751. [\[CrossRef\]](#)
33. Yamaki, K.; Mori, Y. Evaluación de la actividad inhibidora de la α -glucosidasa en alimentos coloreados: un ensayo que utiliza factores de pendiente de curvas de regresión. J. Jpn. Soc. Alimento. Ciencia. 2006, 53, 229–231. [\[Referencia cruzada\]](#)
34. Miyazawa, M.; Hisama, M. Actividad antimutagénica de los flavonoides de *Chrysanthemum morifolium*. Biosci. Biotecnología. Bioquímica. 2003, 67, 2091–2099. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Kalpoutzakis, E.; Aligiannis, N.; Skaltsounis, AL; Mitakou, diterpenos tipo S. cis-Clerodane de *Cistus monspeliensis*. J. Nat. Pinchar. 2003, 66, 316–319. [\[Referencia cruzada\]](#)
36. Sofrenić, I.; Andelković, B.; Vaya devac, D.; Ivanovic, S.; Simić, K.; Ljujić, J.; Tešević, V.; Milosavljević, S. La metabolómica como posible herramienta quimiotaenómica: aplicación en especies seleccionadas de *Euphorbia* que crecen de forma silvestre en Serbia. Plantas 2023, 12, 262. [\[CrossRef\]](#)
37. Raya-González, D.; Pamatz-Bolaños, T.; Río-Torres, R.; Martínez-Muñoz, R.; Ron-Echeverría, O.; Martínez Pacheco, M. D-(+)-pinitol, componente del duramen de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. Z. Naturforschung C 2008, 63, 922–924. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Mariappan, G.; Sundaraganesan, N.; Manoharan, S. Las propiedades espectroscópicas del fármaco anticancerígeno Apigenin se investigaron mediante cálculos DFT, análisis FT-IR, FT-Raman y RMN. Espectroquímica. Acta Parte A Mol. Biomol. Espectrosc. 2012, 95, 86–99. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Flamini, G.; Antonio, E.; Morelli, I. Dos flavonoides y otros compuestos de las partes aéreas de *Centaurea bracteata* de Italia. Fitoquímica 2001, 57, 559–564. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Kim, D.; Lee, J. Evaluación comparativa de fitoquímicos fenólicos de semillas de perilla de diversas especies y detección de sus Propiedades inhibidoras y antioxidantes de la tirosinasa. S. África. J.Bot 2019, 123, 341–350. [\[Referencia cruzada\]](#)
41. Shimmyo, Y.; Kihara, T.; Akaike, A.; Niidome, T.; Sugimoto, H. Flavonoles y flavonas como inhibidores de BACE-1: la relación estructura-actividad en estudios libres de células, basados en células e in silico revelan nuevas características del farmacóforo. Biochim. Biofísica. Acta de 2008, 1780, 819–825. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Roh, J.; Han, J.; Kim, J.; Hwang, J. Efectos inhibidores de compuestos activos aislados de semillas de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) para la melanogénesis. Biol. Farmacéutica. Toro. 2004, 27, 1976–1978. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Céspedes, C.; Balbontín, C.; Ávila, J.; Domínguez, M.; Alarcón, J.; Paz, C.; Burgos, V.; Ortíz, L.; Peñaloza-Castro, I.; Seigler, D.; et al. Inhibición de la colinesterasa y tirosinasa por alcaloides y fenólicos de las hojas de *Aristolelia chilensis*. Alimento. Química. Toxico. 2017, 109, 984–995. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Hui, C.; Xiaoqing, C. Estructuras necesarias de los flavonoides para inhibir las enzimas digestivas. Agentes anticancerígenos Med. Química. 2012, 12, 929–939.
45. Narayanan, C.; Joshi, D.; Mujumdar, A.; Dhekne, V. Pinitol: un nuevo compuesto antidiabético extraído de las hojas de *Bougainvillea spectabilis*. actual. Ciencia. 1987, 56, 139–141.
46. Abo-Elghiet, F.; Ahmed, A.; Aly, H.; Younis, E.; Rabé, M.; Alshehri, S.; Alshahrani, KS; Mohamed, S. Contenido de D-pinitol y actividades antioxidantes y antidiabéticas de cinco *Bougainvillea spectabilis* Willd. Cultivares. Productos farmacéuticos 2023, 16, 1008. [\[CrossRef\]](#)
47. Le Nguyen, TT; Pham, TT; Hansen, PE; Nguyen, PK Actividad inhibidora de la α -glucosidasa in vitro de compuestos aislados de Hojas de manglar *Lumnitzera littorea*. Ciencia. Tecnología. Desarrollo. J. 2019, 106–113. [\[Referencia cruzada\]](#)
48. Ivorra, M.; D'ocón, M.; Payá, M.; Villar, A. Efectos antihiper glucémicos y liberadores de insulina del beta-sitosterol 3-beta-D-glucósido y su aglicona, el beta-sitosterol. En t. Farmacodina. El r. 1988, 296, 224–231.

Descargo de responsabilidad/Nota del editor: Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones son únicamente de los autores y contribuyentes individuales y no de MDPI ni de los editores. MDPI y/o los editores renuncian a toda responsabilidad por cualquier daño a personas o propiedad que resulte de cualquier idea, método, instrucción o producto mencionado en el contenido.