

Capacidad antioxidante de extractos metanólicos de cuerpo entero del escarabajo *Ulomoides dermestoides* (Chevrolat, 1893)

Antioxidant capacity of whole-body methanolic extracts of the beetle *Ulomoides dermestoides* (Chevrolat, 1893)

MSc. Dary Mendoza Meza, Qco. Margareth Salgado Yepes, Qco. Loreys Durant Ibarra

Programa de Química. Universidad del Atlántico. Colombia.

RESUMEN

Introducción: *Ulomoides dermestoides* es un escarabajo usado en medicina tradicional oriental. En Centroamérica y América del Sur los escarabajos se consumen vivos en casos de asma y artritis reumatoide; sin embargo, pocos estudios científicos confirman esta terapia.

Objetivo: Evaluar la capacidad antioxidante de extractos metanólicos del cuerpo entero de *U. dermestoides*.

Métodos: Los extractos fueron obtenidos mediante extracción discontinua con MeOH 48 % y 96 %. La capacidad antioxidante se determinó por el método ORAC y el ensayo de reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

Resultados: Todos los extractos mostraron capacidad antioxidante, pero el extracto obtenido con MeOH 48 % y 48 h de extracción (UD4848) mostró mayor actividad: ORAC= $3,65 \pm 0,5$ equivalentes trolox, reducción DPPH_{30min}= 81,7 % y CI₅₀ del DPPH_{30min}= 23 µg/mL. Los principales componentes del extracto UD4848 fueron: ácidos grasos saturados e insaturados, n-pentadecanol y 4-etil-resorcinol.

Conclusiones: La actividad antioxidante de extractos metanólicos de *U. dermestoides* puede explicar su utilidad in medicina popular.

Palabras clave: *Ulomoides dermestoides*, escarabajos, extractos metanólicos, antioxidantes.

ABSTRACT

Introduction: *Ulomoides dermestoides* is a beetle used in traditional Oriental medicine. In Central and South America beetles are eaten alive as a treatment for asthma and rheumatoid arthritis, but few scientific studies validate this therapy.

Objective: Evaluate the antioxidant capacity of whole-body methanolic extracts of *U. dermestoides*.

Methods: Extracts were obtained by discontinuous extraction with 48 % and 96 % MeOH. Antioxidant capacity was determined by the ORAC method and the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical reduction assay.

Results: All extracts showed antioxidant capacity, but the extract obtained with 48 % MeOH and 48 h extraction time (UD4848) exhibited higher activity: ORAC= 3.65 ± 0.5 trolox equivalents, reduction DPPH30min= 81.7 % and IC50 of DPPH30min= 23 µg/mL. The main components in extract UD4848 were saturated and unsaturated fatty acids, n-pentadecanol and 4-ethyl resorcinol.

Conclusions: The antioxidant activity of methanolic extracts of *U. dermestoides* may explain its use in folk medicine.

Key words: *Ulomoides dermestoides*, beetles, methanolic extracts, antioxidants.

INTRODUCCIÓN

Muchas culturas en el mundo utilizan insectos y algunos productos extraídos de estos como recursos nutracéuticos. *Ulomoides dermestoides* (Chevrolat, 1893) (sinonimia: *Martianers dermestoides*; *Palembus dermestoides*) es un coleóptero tenebriónido de origen asiático, conocido en la cultura oriental por sus propiedades afrodisíacas y terapéuticas.¹ En Centroamérica y América del Sur el *Ulomoides dermestoides* se consume vivo como terapia alternativa para el asma bronquial, artritis reumatoide, diabetes mellitus, inflamaciones y diferentes tipos de cáncer.^{2,3} A pesar de su amplio uso en medicina folclórica, la mayoría de los estudios científicos sobre este coleóptero se han enfocado en su biología y método de cultivo; no obstante, en años recientes, han surgido una serie de trabajos enfocados a demostrar sus propiedades antiinflamatorias,^{4,5} citotóxicas y genotóxicas.⁶

La exposición a radicales libres y especies reactivas de oxígeno puede favorecer la inflamación crónica en los tejidos animales, lo cual puede, a su vez, inducir otros padecimientos crónicos como el cáncer, la diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares, neurológicas y pulmonares.⁷ Por lo anterior, uno de los mecanismos para neutralizar las especies reactivas del oxígeno es el consumo de sustancias antioxidantes obtenidas de productos naturales. Debido a que el potencial de los insectos comestibles, como fuente de antioxidantes naturales, se ha explorado poco, el presente estudio se propone analizar la capacidad antioxidante de extractos metanólicos del cuerpo entero de *Ulomoides dermestoides* y la relación con su composición química.

MÉTODOS

Muestras

Se utilizaron escarabajos adultos de la especie *Ulomoides dermestoides* procedentes de un cultivo establecido en el Laboratorio de Productos Naturales de la Universidad del Atlántico desde el año 2010. La identidad taxonómica de los escarabajos fue confirmada en el Departamento de Entomología del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia (código de colección ICN-45905). Para la obtención de los extractos se utilizaron los individuos adultos del color más oscuro (Fig. 1).



Fig. 1. Cultivo de *Ulomoides dermestoides* sobre pan integral.

Extractos

Los escarabajos (5 g) fueron separados del cultivo y triturados usando el método tradicional de fragmentación por fricción con mortero, bajo una corriente de nitrógeno líquido. Los extractos se produjeron mediante extracción sólido-líquido por agitación discontinua con MeOH, usando una relación peso: volumen (1:10). Se llevaron a cabo cuatro condiciones diferentes de extracción, como se muestra en la tabla 1. Los productos obtenidos se filtraron, se congelaron a -70 °C y se liofilizaron por 48 h a -40 °C y una presión de vacío de 0,133 mBar, luego se codificaron y almacenaron en viales de vidrio color ámbar, a temperatura de -20 °C.

Tabla 1. Condiciones experimentales para la obtención de extractos metanólicos de *Ulomoides dermestoides*

Tratamiento	Concentración del MeOH (% v/v)	Tiempo de extracción (h)
UD9624	96	24
UD9648	96	48
UD4824	48	24
UD4848	48	48

Determinación del valor ORACFL (capacidad de absorción de radicales del oxígeno)

Este método se fundamenta en la disminución de la fluorescencia emitida por la fluoresceína (FL) en presencia de radicales libres generados por AAPH (2,2'-azo-bis (2-metilpropionamidin) dihidro-cloro).⁸ Los ensayos se llevaron a cabo en placas de microtitulación de 200 µL, a cada pocillo se adicionó 20 µL del antioxidante de referencia Trolox® (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2-carboxilo) o de la muestra, 120 µL de fluoresceína 70 nM y se incubó en oscuridad a 37 °C por 15 min. Seguido se agregó 60 µL del radical AAPH 4,8 mM, se agitó y se midió la fluorescencia en un lector de microplacas Turner Biosystems. Las lecturas se realizaron a intervalos de 1 min durante 35 min a longitud de onda de excitación de 485 nm y longitud de onda de emisión de 520 nm. El cálculo de los resultados se realizó tomando la diferencia del área debajo de la curva de disminución de la fluorescencia versus tiempo, entre: el blanco y la muestra o el blanco y el estándar (Trolox®). Los resultados se expresaron como µM de equivalentes Trolox por mg de peso seco (µM ET/mg). También se determinó el valor ORAC de tres compuestos antioxidantes de referencia (alfa-tocoferol, ácido vanílico y catequina).

Evaluación de la actividad reductora de radicales 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH)

Se fundamenta en la medición de la diferencia de absorbancia del radical DPPH en presencia de un blanco y de un antioxidante, a longitud de onda de 517 nm. Un volumen de 50 µL de cada extracto fue disuelto en MeOH 96 % (200 µg/mL) y se mezcló con 2 mL de una solución metanólica de DPPH 0,1M, se realizaron lecturas de absorbancias a 517 nm cada 30 s hasta completar 30 min, en un espectrofotómetro UV-Visible Genesys 2, utilizando MeOH como blanco de referencia. Se calculó el porcentaje de reducción del radical DPPH, usando la siguiente expresión:

$$\% \text{ de reducción DPPH} = \frac{[(A_p - A_{bp}) - (A_m - A_{bm})]}{(A_p - A_{bp})} \times 100$$

donde, A_p = absorbancia del patrón; A_{bp} = absorbancia del blanco del patrón; A_m = absorbancia de la muestra; A_{bm} = absorbancia del blanco de la muestra.

Para establecer la concentración del extracto que ocasiona una reducción del 50 % de la absorbancia del DPPH en comparación con el blanco (CI50), se prepararon diluciones del extracto que mostró mayor capacidad antioxidante (250 a 3,12 µg/mL). Cada dilución (50 µL) se mezcló con 2 mL de DPPH 0,1 M, las lecturas de absorbancia se realizaron después de 30 min de incubación en oscuridad. La CI50 se calculó según la relación: $CI50 = C1 - DC$, donde: $DC = [(C1 - C2) \times (PI1 - 50)] / (PI1 - PI2)$, en el que: PI1 y PI2 corresponden a los valores de porcentajes de inhibición inmediatamente superiores e inferiores al 50 % de inhibición y C1 y C2 corresponden a las concentraciones en las que se producen PI1 y PI2, respectivamente. Como estándar de referencia para este ensayo se usó ácido gálico.

Caracterización química

Se realizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). La columna empleada fue DB-5MS (J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) [5 %-fenilpoli (dimetilsiloxano), 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm]. La inyección se realizó en modo Split (30:1), Viny = 2 µL. La identificación tentativa de los compuestos se estableció con base en sus espectros de masas, usando las bases de datos de Adams, Wiley 138 y NIST05.

Análisis estadístico

Los ensayos de capacidad antioxidante se realizaron por triplicado y se expresaron como valor de la media ± desviación estándar (DE). Se realizó análisis de varianza para establecer si existían diferencias significativas entre los tratamientos, también se aplicó análisis de comparación entre las medias de dos grupos usando el test T de Student con un nivel de confianza del 95 %, un valor de $p \leq 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Todas las evaluaciones estadísticas se realizaron con el paquete estadístico SPSS Inc., an IBM Company, Chicago, H, IL, USA.

RESULTADOS

Todos los extractos metanólicos de *Ulomoides dermestoides* tienen actividad antioxidante; sin embargo, el extracto UD4848 presentó valor ORAC mayor ($3,65 \pm 0,46$). La variable más determinante en la extracción de las sustancias antioxidantes fue el tiempo de extracción (tabla 2). Adicionalmente, todos los extractos tuvieron valor ORAC mayor al observado con el antioxidante de referencia alfa-tocoferol ($0,35 \pm 0,30$), pero inferior al observado con el ácido vanílico ($7,90 \pm 1,27$) y la catequina ($26,5 \pm 3,54$).

Los resultados con el método DPPH se muestran en la figura 2. El extracto UD4848 mostró mayor porcentaje de reducción del radical DPPH a los 30 min: UD4848= $81,7 \pm 2,3$ %, UD4824= $78,97 \pm 0,82$ %, UD9648= $73,96 \pm 1,48$ % y UD9624= $59,78 \pm 3,74$ %. La inhibición de la actividad DPPH del extracto UD4848 fue dosis-dependiente con una CI50 de 23 µg/mL, la cual es mayor al estándar de referencia ácido gálico (CI50 de 45 µg/mL) (Fig. 3).

Tabla 2. Valor ORAC de extractos metanólicos de *Ulomoides dermestoides*

Muestras	Valor ORAC ($\mu\text{M ET/mg}$)
UD4824	$2,45 \pm 0,32a$
UD4848	$3,65 \pm 0,46a$
UD9624	$3,09 \pm 0,35$
UD9648	$3,58 \pm 0,53$

Los valores de las muestras marcadas por las mismas letras son significativamente diferentes, $p \leq 0,05$.

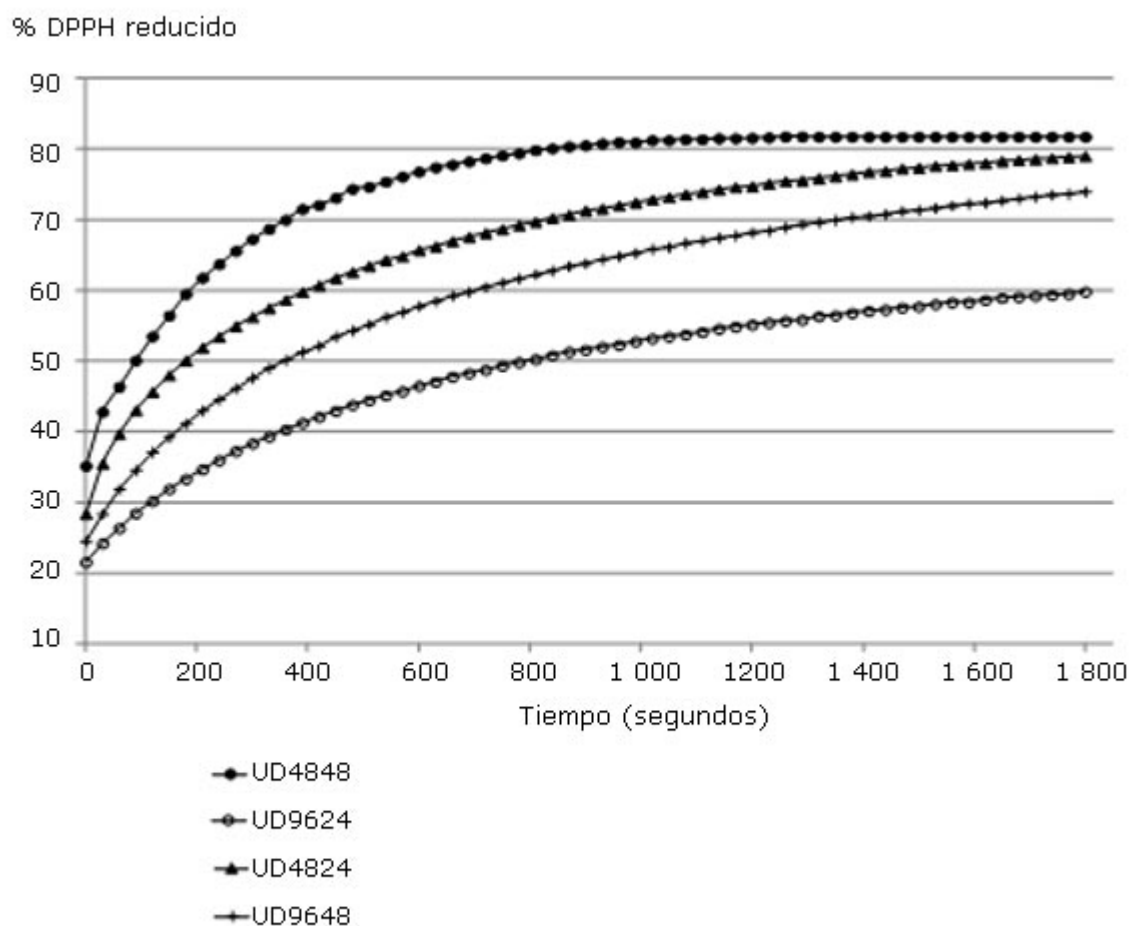


Fig. 2. Resultados del ensayo cinético de captación del radical DPPH en los extractos metanólicos de *Ulomoides dermestoides* (200 $\mu\text{g/mL}$).

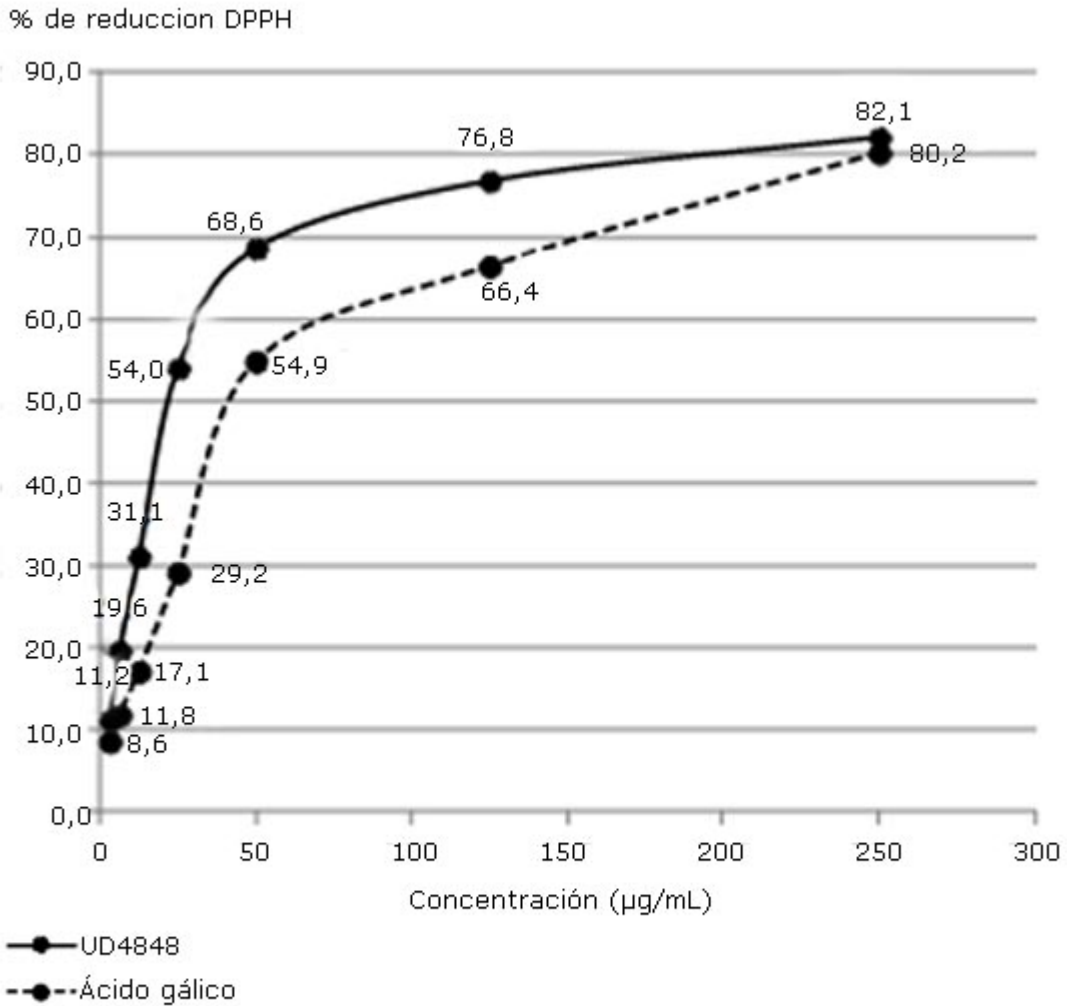


Fig. 3. Curva dosis dependiente de la reducción del radical DPPH por el extracto metanólico de cuerpo entero de *Ulomoides dermestoides* (UD4848) y el ácido gálico.

El análisis de composición química por CG-EM del extracto UD4848 mostró la siguiente composición química: ácido linoleico (29,1 %), ácido palmítico (23,9 %), ácido oleico (21,9), ácido esteárico (5,6 %), n-pentadecanol (11,2 %), 4-etil-resorcinol (6,8 %), tetradecanoato de metilo (0,5) y dos compuestos con M+ 272 (0,9 %).

DISCUSIÓN

Este es el primer informe de actividad antioxidante de extractos metanólicos de *Ulomoides dermestoides*. Una publicación previa informó de la identificación y aislamiento de una enzima antioxidante, la superoxidodismutasa, en extractos de *Ulomoides dermestoides* obtenidos con NaCl 0,13M;⁹ otro estudio, publicado por Liu y colaboradores en 2012, demostró la actividad antioxidante de extractos polares de otro escarabajo, el *Holotrichia parallela* (coleóptera: scarabaeidae), sugiriendo que este puede usarse como nutracéutico para aliviar enfermedades inducidas por estrés oxidativo y como aditivo antioxidante para la industria de alimentos.¹⁰

El efecto antiinflamatorio atribuido al consumo de *Ulomoides dermestoides* puede, en parte, ser explicado por la actividad antioxidante de algunos metabolitos presentes en el cuerpo de los escarabajos adultos.

Se ha reportado que compuestos con grupos sustituyentes hidrofóbicos en la posición C4 del resorcinol son antioxidantes y potentes inhibidores de la actividad tirosinasa, una enzima que cataliza la oxidación de fenoles.¹¹

En el presente estudio se identificó al 4-etil-resorcinol en el extracto metanólico de *U. dermestoides* y, a pesar de no ser un compuesto mayoritario en el extracto, este puede contribuir a la capacidad antioxidante del insecto.

El ácido oleico es otro compuesto con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias identificado en el extracto metanólico del *Ulomoides dermestoides*, una revisión sistemática de bases bibliográficas electrónicas y artículos seleccionados, mostró que las dietas ricas en ácido oleico tienen efectos benéficos en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la inflamación;¹² adicionalmente, Bartoli et al, 2000 reportaron que el ácido oleico pueden influenciar el metabolismo del ácido araquidónico, disminuyendo la producción de eicosanoides proinflamatorios.¹³

Estos resultados contribuyen al conocimiento de las propiedades etnofarmacológicas atribuidas al consumo del *Ulomoides dermestoides*. Se sugiere que los compuestos ácido oleico y 4-etil-resorcinol pueden ser los responsables de la actividad antioxidante del extracto metanólico de *Ulomoides dermestoides*; sin embargo, es necesario investigar otros compuestos que no se detectaron por la CG-EM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chu GS, Palmieri JR, Sullivan JT. Beetle-eating: a Malaysia folk medical practice and its public health implications. *Trop Geogr Med.* 1977;29 (4):422-7.
2. Flores GE, Padín SB, Stetson RE. First records of the Oriental species *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae) in Argentina. *Rev Soc Entomol Argent.* 2002;61 (3/4):48-50.
3. Dacanay AA, Cervancia CR. Biology of *Palembus (Martianus) dermestoides* Chevrolat (Coleoptera; Tenebrionidae). *Philippines Ent.* 1989;7(5):471-7.
4. Santos RC, Lunardelli A, Caberlon E, Bastos CM, Nunes FB, Pires MG, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Ulomoides dermestoides* on induced pleurisy in rats and lymphoproliferation in vitro. *Inflammation.* 2010;33 (3):173-9.
5. Mendoza DL, Saavedra S. Chemical composition and anti-irritant capacity of whole body extracts of *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera, Tenebrionidae). *Vitae.* 2013;20 (1):41-8.
6. Crespo R, Villaverde ML, Girotti JR, Güerci A, Juárez MP, de Bravo MG. Cytotoxic and genotoxic effects of defence secretion of *Ulomoides dermestoides* on A549 cells. *J Ethnopharmacol.* 2011;136(1):204-9.
7. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med.* 2010;49(11):1603-16.

8. Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity of plasma and other biological and food samples. *J Agric Food Chem.* 2003;51(11):3273-9.
9. Long D, Defu C, Beibei Z, Xiao Can L, Jia Y. Optimization of extraction conditions for superoxide dismutase from *Martianus dermestoides*. *Journal of Northeast Forestry University.* 2009;37(4):69-70.
10. Liu S, Sun J, Yu L, Zhang C, Bi J, Zhu F, et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of *Holotrichia parallela* Motschulsky extracts. *Food Chem.* 2012;134(4):1885-91.
11. Kuniyoshi S, Kondo R, Sakai K. Inhibition of Tyrosinase by Flavonoids, Stilbenes and Related 4-Substituted Resorcinols: Structure-Activity Investigations. *Planta Med.* 2000;66(1):11-5.
12. Carrillo C, Cavia M del M, Alonso-Torre S. Role of oleic acid in immune system; mechanism of action; a review. *Nutr Hosp.* 2012;27(4):978-90.
13. Bartoli R, Fernández-Banares F, Navarro E, Castella E, Mane J, Álvarez M, et al. Effect of olive oil on early and late events of colon carcinogenesis in rats: modulation of arachidonic acid metabolism and local prostaglandin E2 synthesis. *Gut.* 2000;46(2):191-9.

Recibido: 3 de mayo de 2013.
Aprobado: 22 de mayo de 2013.

MSc. Dary Mendoza Meza. Programa de Química. Universidad del Atlántico. Correo electrónico: darymendoza@mail.uniatlantico.edu.co