



Propuesta de compuestos fenólicos presentes en el extracto metanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (kunth) govaerts «panisara»

Characterization of phenolic compounds of the methanolic extract of leaves of *clinopodium pulchellum* (kunth) govaerts «panisara»

Diana J. Zelada Mallico¹, Pablo E. Bonilla Rivera¹

¹ Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara". Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima- Perú.

RESUMEN

Objetivos. Proponer compuestos fenólicos presentes en el extracto metanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panisara». **Materiales y métodos.** Se preparó un extracto metanólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panisara», se determinó la solubilidad por disolución de extracto en solventes de polaridad creciente. Se detectaron algunos componentes químicos mediante un screening fitoquímico empleando gelatina, tricloruro férrico, reacción de Mayer, reacción de Shinoda, entre otros. Se realizó cromatografía en capa fina, revelándose por aspersión con reactivos cromogénicos y se propone posibles estructuras de componentes mediante espectroscopía UV. **Resultados.** El extracto metanólico presentó buena solubilidad en solventes de alta y mediana polaridad. El screening fitoquímico dio resultados positivos para la presencia de compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados: flavonoides, alcaloides y glicósidos. **Conclusión.** Se propuso la estructura química de tres flavonoides obtenidos del extracto metanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panisara».

Palabras clave: *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts; Flavonoides; Screening fitoquímico; Cromatografía en capa fina; Espectroscopía UV/Vis (Fuente: DeCS).

ABSTRACT

Objectives. Propose phenolic compounds present in the methanolic extract of *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" leaves. **Materials and methods.** A methanolic extract of the *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" leaves was prepared by maceration, the solubility was determined by dissolving the extract in solvents of increasing polarity. Some chemical components were detected by phytochemical screening using gelatin, ferric trichloride, Mayer reaction, Shinoda reaction, among others. Thin layer chromatography was performed, revealing by spray with chromogenic reagents and possible component structures by UV spectroscopy. **Results.** The methanolic extract showed good solubility in solvents of high and medium polarity. Phytochemical screening gave positive results for the presence of phenolic compounds and nitrogen compounds: flavonoids, alkaloids and glycosides. **Conclusion.** The chemical structure of three flavonoids obtained from the methanolic leaf extract of *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" was proposed.

Key words: *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts; Flavonoids; Phytochemical screening; Thin layer chromatography; UV / Vis spectroscopy (Source: DeCS).

Información del artículo

Correspondencia

Diana Jazmín Zelada Mallico
diana.zelada@unmsm.edu.pe
937017768

Conflictos de interés

Ninguno.

Fuente de financiamiento

Autofinanciado.

Citar como: Zelada Mallico DJ, Bonilla Rivera PE. Propuesta de compuestos fenólicos presentes en el extracto metanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (kunth) govaerts «panisara». Rev Peru Med Integrativa. 2020; 5(4):135-9. doi: http:

INTRODUCCIÓN

La medicina herbaria se basa en el uso de plantas medicinales, práctica presente desde tiempos inmemorables, que alivia y cura las dolencias de pobladores que, muchas veces, tienen limitaciones para la obtención de fármacos⁽¹⁾. Por ello, es importante brindar una base científica al saber popular y, de esta manera, contribuir a la ampliación del conocimiento sobre una base sólida que podría servir para futuras investigaciones⁽²⁾.

Entre los diversos constituyentes químicos, existen compuestos que presentan uno o varios anillos fenólicos, como los polifenoles, que se encargan de la defensa ante situaciones de estrés y estímulos luminoso o hídrico, además, están relacionados con la disminución de enfermedades cardiovasculares⁽³⁾. Se clasifican de diversas maneras siendo uno de los principales subgrupos, los flavonoides⁽⁴⁾. Los flavonoides son pigmentos producidos por las plantas y la protegen del daño oxidativo, el mismo efecto que produce en los seres vivos que lo consumen⁽⁵⁾.

La especie endémica *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panisara», también llamada limoncillo, crece a 2800 y 3500 m de altitud⁽⁶⁾, pertenece a la familia Lamiaceae y es utilizada contra dolencias gastrointestinales y retrasos menstruales⁽⁷⁾. Además, el aceite esencial de esta planta ha demostrado poseer actividad antibacteriana debido a otros constituyentes químicos que también posee^(8,9).

Por esta razón, el presente trabajo busca proponer posibles estructuras químicas de compuestos fenólicos en el extracto metanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panisara», responsables de algunas actividades farmacológicas atribuibles.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales «Juan de Dios Guevara». Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Material vegetal

Planta herbácea aromática de tallo delgado, se desarrolla en forma de mata, muy ramificado. Hojas pequeñas con base acorazonada y ápice agudo. Flores pequeñas con cinco sépalos y pétalos unidos⁽¹⁰⁾. Se recolectó en la región La Libertad (Perú), distrito de Cachicadán, cerro “La Botica” y fue identificada taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Preparación del extracto

Las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panisara» estaban libres de hongos y deterioro. Se secó

a temperatura ambiente y luego en una estufa de aire circulante a 35 °C. Posteriormente, se molió y se llevó a maceración 61,83 g de polvo en 400 mL de metanol, se agitó diariamente durante una semana. Finalmente, se filtró a una placa Petri y se concentró a sequedad en la estufa de aire circulante a 40 °C.

Ensayo de solubilidad

En ocho tubos de ensayo se colocó alrededor de 10 mg del extracto seco; a cada tubo se agregó 1 mL de los siguientes solventes de baja, media y alta polaridad: n-hexano, diclorometano, acetona, acetato de etilo, n-butanol, metanol, etanol y agua⁽¹¹⁾.

Screening fitoquímico

La identificación de los metabolitos secundarios se realizó mediante observación de cambios de coloración y/o formación de precipitados de acuerdo con la marcha fitoquímica general⁽¹²⁾.

Cromatografía en capa fina (CCF)

La fase estacionaria de la cromatografía en capa fina a escala preparativa, fue una cromatopla de silicagel G 60 de 15x20 y la fase móvil fue cloroformo-metanol en proporción 2:1. Se reveló con una lámpara de luz UV a 365 nm y 254 nm. También se utilizaron reveladores cromogénicos específicos como Dragendorff (alcaloides), reactivo FeCl₃ 1% (compuestos fenólicos), reactivo vainillina sulfúrica 1:1 (glicósidos) y reactivo de amoníaco (flavonoides)⁽¹³⁾.

Estudio por espectroscopía UV

Cada mancha producto del desarrollo cromatográfico fue aislado por un proceso de desorción, colocado en viales que fueron leídos en el espectrofotómetro UV/vis Thermo Scientific GENESYS® y comparado con las estructuras publicadas por Mabry⁽¹⁴⁾.

RESULTADOS

Prueba de solubilidad

El extracto de *Clinopodium pulchellum* se solubilizó completamente en metanol; medianamente en acetato de etilo, diclorometano y etanol, y poco en agua.

Tabla 1. Prueba de solubilidad del extracto metanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum*¹¹

Solvente	Resultado
n-hexano	+
diclorometano	++
acetona	+
acetato de etilo	++
n- butanol	+
metanol	+++
etanol	++
agua	+

Soluble (+++). Parcialmente soluble (++) . Poco soluble (+). Insoluble (-).

Tabla 2. Screening fitoquímico del extracto metanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum*

Metabolito	Reactivo	Resultado
Taninos	Gelatina	++
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	+++
Compuestos nitrogenados	Rx. Dragendorff	+
Aminoácidos libres	Rx. con Ninhidrina	-
Alcaloides	Rx. Mayer	+
Quinonas	Rx. Borntrager	+++
Flavonoides	Rx. Shinoda	+++
Glicósidos	Rx. Molisch	++

Abundante (+++). Regular (++). Escaso (+). Ausente (-).

Screening fitoquímico

El extracto metanólico mostró mayor intensidad para las reacciones de FeCl₃, Borntrager y Shinoda, presentando abundancia de quinonas y flavonoides, y regular cantidad de alcaloides.

Cromatografía en capa fina a escala preparativa

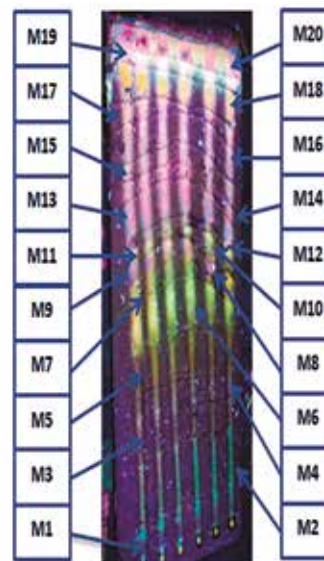
Revelado cromatográfico

Se observó cambios en la coloración al reaccionar con los reveladores lo que evidencia la presencia de alcaloides, flavonoides, quinonas, y glicósidos.

A partir del barrido batocrómico y, en comparación con estructuras publicadas por Mabry⁽¹⁴⁾, se proponen los tres componentes químicos aislados mediante desorción (Figura 3).

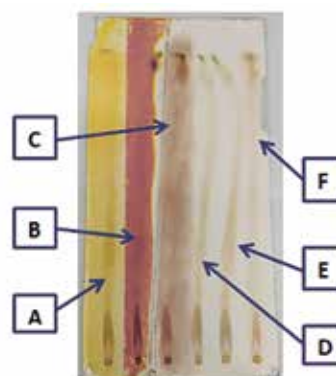
Tabla 3. Factor de retención

N.º de mancha	Factor de retención (Rf)	N.º de mancha	Factor de retención (Rf)
1	0,0105	11	0,6158
2	0,0447	12	0,6316
3	0,0737	13	0,6711
4	0,1395	14	0,7368
5	0,2342	15	0,8053
6	0,2974	16	0,8526
7	0,3710	17	0,8763
8	0,4763	18	0,8868
9	0,5473	19	0,9289
10	0,5868	20	0,9605

**Figura 1.** Revelado cromatográfico a la longitud de onda de 265 nm.

DISCUSIÓN

El extracto metanólico de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panisara» mostró poca solubilidad en n-hexano, solvente apolar, el cual no forma puentes de hidrógeno ni cede electrones, limitándose a la solvatación a sustratos lipofílicos⁽¹⁵⁾. También mostró solubilidad parcial en etanol, que le permite ceder electrones del grupo hidroxilo y su extremo lipofílico solvata componentes orgánicos de pequeño y mediano volumen, todo esto le da la capacidad de solubilizar fitoconstituyentes semipolares⁽¹⁶⁾. Por último, se evidenció alta solubilidad en el metanol, lo que indicaría una mayor cantidad de componentes polares siguiendo la regla en el sentido de que «lo semejante

**Figura 2.** Revelado cromatográfico del extracto metanólico. A. Dragendorff B. Tricloruro férrico C. Vainillina sulfúrica D. Amoniaco E. Blanco F. Ácido sulfúrico.

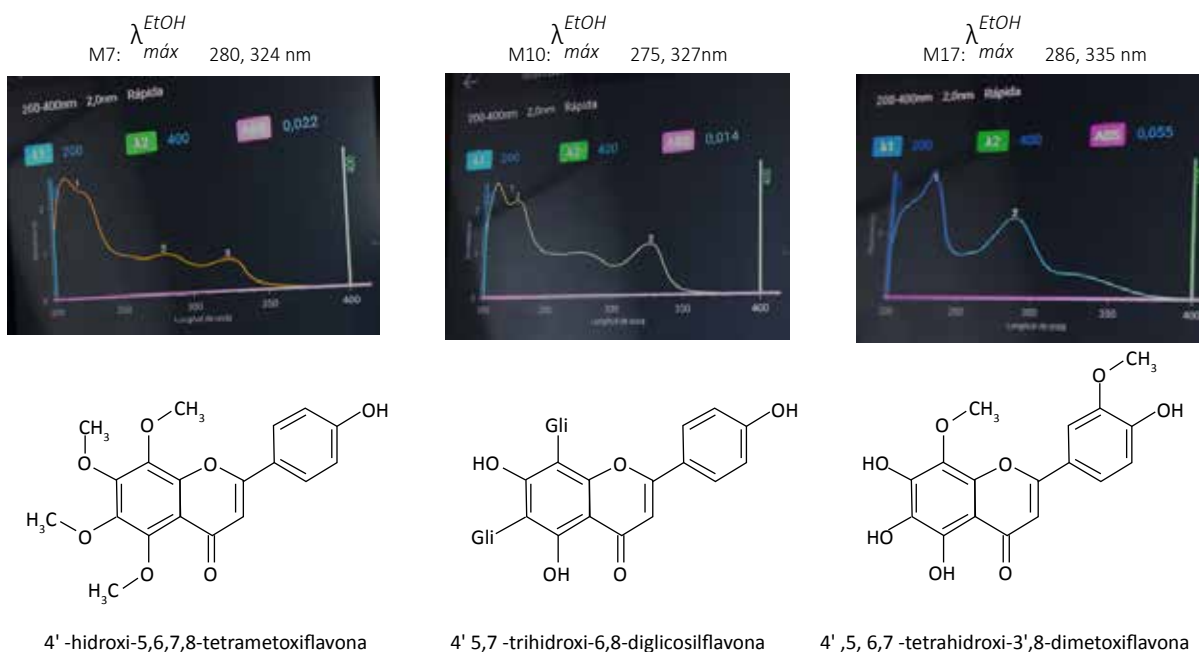


Figura 3. Estructuras propuestas del extracto metanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum*

disuelve a lo semejante»⁽¹⁷⁾. Lo mencionado coincide con Beltrán, que trabajó sobre el género *Clinopodium* sometiendo la muestra de *Clinopodium taxifolium* (Kunth) Govaerts («chininga») a solventes de diferente polaridad como hexano, etanol y agua⁽¹⁸⁾. Asimismo, según Tapia E, el aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panisara» obtenido por destilación con arrastre de vapor de agua, es soluble en n-hexano y éter etílico, ligeramente soluble en metanol, e insoluble en agua; lo cual indica la importancia del método de extracción en la obtención de compuestos químicos⁽⁸⁾.

Los flavonoides polares poseen un gran número de grupos hidroxilos libres y son solubles en solventes polares por lo que su extracción se puede realizar con metanol al 85%⁽¹⁹⁾. Esto explicaría por qué el *screening* fitoquímico del extracto metanólico indicó abundancia en compuestos fenólicos, quinonas y flavonoides. Sin embargo, para los flavonoides de baja polaridad el proceso de extracción es inmediato con MeOH conteniendo HCl 1% (v/v)⁽¹⁹⁾.

Los resultados mostraron poca reacción del extracto metanólico para compuestos nitrogenados y alcaloides con las reacciones de Dragendorff y Mayer, respectivamente. Lo que difiere a lo encontrado por Toche T, quien reporta abundancia de estos compuestos en el extracto etanólico de la misma especie⁽²⁰⁾. Esto podría deberse al solvente empleado ya que los compuestos nitrogenados poseen distintas solubilidades en función de su pH⁽²¹⁾, el metanol presenta un pH de 7⁽²²⁾ mientras que el etanol de 6⁽²³⁾; por lo que se puede extraer en medio ácido con agua, solución alcohólica 70% o hidroalcohólica⁽²¹⁾.

El revelado cromatográfico por aspersion evidencia presencia de flavonoides con el reactivo de FeCl₃, ya que la mayoría de los fenoles forman un complejo con el Fe (III) dando la reacción de coloración, al igual que con cloruro de aluminio⁽²⁴⁾. Además, la reacción cualitativa con este reactivo resultó en una coloración verde oscura, que podría sugerir la presencia de un derivado de la catequina en el extracto⁽²⁵⁾.

Por lo tanto, se proponen estructuras de las fracciones aisladas mediante cromatografía en capa fina, las cuales fueron comparadas con las tablas presentadas en el libro de TJ Mabry, en las que se dan ejemplos de compuestos fenólicos tipo flavonoide.

CONCLUSIÓN

Se plantea las posibles estructuras de 3 flavonas: 4'-hidroxi-5, 6, 7,8 tetrametoxiflavona; 4', 5,7-trihidroxi-6,8-diglicosilflavona y 4', 5, 6,7-tetrahidroxi-3',8-dimetoxiflavona, presentes en el extracto metanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts «panisara»

Agradecimientos

Agradecemos a los asistentes del laboratorio de química orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM; por su apoyo en el desarrollo de la investigación y supervisión de los procedimientos realizados: Gustavo Adolfo Fernández Rebaza, Toche Tuesta Analucía y Rayne Gutiérrez Robert Leonardo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2016; 77(4):327-32.
- Heisler E, Budó M, Schimith M, et al. Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña. *Enfermería global*. 2015; 39: 390-403.
- Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*. 2012;27(1):76-89
- Valencia E, Ignacio I, Sosa E, et al. Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*. 2017. p16.
- Martínez S, González J, Culebras M, Tuñón J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. 2002; 17(6):271-278.
- Rodríguez M. Lamiaceae Endémicas Del Perú. *Revista Peruana De Biología*. 2013; 13 (2), 371s-79.
- Bussmann RW, Glenn A. Medicinal plants used in Northern Peru for reproductive problems and female health. *J Ethnobiol Ethnomedicine*. 1 de noviembre de 2010;6:30
- Tapia E. Composición química, actividad antioxidante y antiCandida albicans del aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panizara". Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2018
- Cueva E. Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panizara".
- Rodríguez C. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara" procedente del distrito de Cachicadán-La Libertad, Perú. Universidad Nacional de Trujillo. 2019.p3.
- Soriano M, Bonilla P, Arroyo J y Pereyra S. Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed. *Folia dermatol*. 2004. 15 (3): 155-159.
- Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2da ed. Lima: Fondo Editorial PUCP.1994. p 98-102.
- Vista de Estudio fitoquímico preliminar y actividad antimalárica del extracto etanólico total de *Coccocypselum* [Internet]. [citado 18 de enero de 2019]. Disponible en: <http://revistas.unimagdalena.edu.co/index.php/duazary/article/view/677/637>
- Mabry TJ, Markhatn KR, Thomas MB. The systematic identification of flavonoids. Springer- Verlag. New York- Heidelberg- Berlin, 1970.
- Catálogo de plantas medicinales. 1 ed. Universidad de Ingeniería. 1994. p 272.
- Avendaño C. Introducción a la química farmacéutica. 2 ed. Mc Graw- Hill Interamericana. España. 2001.p 850-851.
- Wade L. Química Orgánica, 2 ed. Prentice- Hall Hispanoamericana. S.A. México. 1993. p66-68.
- Beltrán S. Determinación de metabolitos secundarios de las hojas de *Clinopodium taxifolium* (Kunth) Govaerts (Chinininga)
- Cartaya O. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 2001;22(2): 5-14.
- Toche T, Curay C, Díaz B, et al. Estructura química de compuestos fenólicos del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara". *Rev Peru Med Integrativa*.2017;2(3):803-9.
- Barahona E, Guadalupe B. Determinación de alcaloides esteroideos en extracto alcohólico del fruto del *Solanum mammosum* (chichigua) por cromatografía de capa fina. Universidad de El Salvador.2007. p29.
- Corporación Química Venezolana. Metanol (Alcohol Metílico). Ficha de datos de seguridad (FDS).1997. Disponible en: <http://www.uacj.mx/IIT/CICTA/Documents/Quimicos/metanol.pdf>
- Alcohol etílico. Instituto Nacional de Rehabilitación. Comité de bioseguridad, hoja de seguridad (MSDS). 2013. Disponible en: <http://www.inr.gob.mx/Descargas/bioSeguridad/AlcoholEtilico.pdf>
- María Elena del Valle. Aislamiento y determinación de estructura química de principios activos presentes en *Eugenia uniflora*, centrado en los compuestos solubles en metanol. Universidad Nacional de La Plata.p71.
- Colina A. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de "*Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm) I.M. Johnston" de la zona de Yucay (Cusco). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2016. p49.