

Artículo Original

Metabolitos secundarios y capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Minthostachys mollis* (muña)

Secondary metabolites and antioxidant capacity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Minthostachys mollis* (muña)

Carlos Cano P. ¹, Pablo Bonilla R. ², Rubén Valdivieso I. ³

Recibido: 13/12/2019 Aceptado: 07/02/2020 Publicado: 31/08/2020

Resumen

El objetivo de la presente investigación fue identificar algunos metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Minthostachys mollis* (muña), y determinar su Capacidad antioxidante. La especie vegetal se recolectó en el distrito de Huamanguilla (3276 msnm), provincia de Huanta, Ayacucho. El extracto se preparó con hojas secas pulverizadas de *Minthostachys mollis* (muña), mediante maceración hidroalcohólica, con el que se realizaron ensayos de solubilidad con solventes de diferente polaridad, así como también la marcha fitoquímica, luego se separaron algunos metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina obteniéndose 12 fracciones las que fueron leídas al espectrofotómetro UV-vis. En el extracto hidroalcohólico se determinó su capacidad antioxidante (DPPH, ABTS). Mediante espectroscopia UV visible se propone la estructura química de 5 flavonas y 1 flavanona. Se halló buena Capacidad antioxidante mediante los métodos DPPH y ABTS.

Palabras clave: Extracto hidroalcohólico de *Minthostachys mollis*; Capacidad antioxidante; DPPH; ABTS; espectroscopia UV-vis.

Abstract

The objective of the present investigation was to identify some secondary metabolites in the hydroalcoholic extract of leaves of *Minthostachys mollis* (muña), and determine its antioxidant capacity. The plant species was collected in the district of Huamanguilla (3276 masl), province of Huanta, Ayacucho. The extract was prepared with dried powdered leaves of *Minthostachys mollis* (muña), by hydroalcoholic maceration, with which solubility tests were carried out with solvents of different polarity, as well as the phytochemical march, then some secondary metabolites were separated by layer chromatography fine obtaining 12 fractions which were read to the UV-vis spectrophotometer. In the hydroalcoholic extract its antioxidant capacity (DPPH, ABTS) was determined. The chemical structure of 5 flavones and 1 flavanone is proposed by visible UV spectroscopy. Good antioxidant capacity was found using the DPPH and ABTS methods.

Keywords: Hydroalcoholic extract of *Minthostachys mollis*; antioxidant capacity; DPPH; ABTS; UV-vis spectroscopy.

1 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara". Lima, Perú. Autor para correspondencia: alfcanpe@hotmail.com

2 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara". Lima, Perú. E-mail: pbonillar@unmsm.edu.pe ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7286-6810>

3 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Instituto Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición (ICIBN), Dpto. Ciencias Dinámicas. Lima, Perú. E-mail: lvaldivieso@unmsm.edu.pe ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8534-9767>

Citar como:

Cano, C., Bonilla, P. y Valdivieso R. (2020). Metabolitos secundarios y capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Minthostachys mollis* (muña). *Ciencia e Investigación* 2020 23(1):15-18. doi: <http://dx.doi.org/10.15381/ci.v23i1.18718>

© Los autores. Este artículo es publicado por la Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución - No Comercia_Compartir Igual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son compuestos que evitan la formación de radicales libres. Estos (antioxidantes) brindan protección al cuerpo humano mediante la inhibición de varias reacciones de cadena oxidante. Las especies reactivas de oxígeno generadas (ERO) reaccionan exógenamente con diversas biomoléculas presentes en la piel y desempeñan un papel importante en los trastornos de la piel. Los compuestos *fenólicos* son sustancias bioactivas ampliamente distribuidas en las plantas, siendo componentes importantes de la dieta humana, comprenden una gran diversidad, como son los flavonoides (antocianinas, flavonoles, flavonas, etc.) y varias clases de no flavonoides (ácidos fenólicos, ligninas, estilbenos). Los antioxidantes naturales son efectivos para prevenir la formación de radicales libres al eliminarlos o promover su descomposición y suprimir los trastornos. Algunos compuestos inhiben el inicio o la propagación de reacciones de cadena oxidativa, previniendo o reparando el daño oxidativo causado por las células del cuerpo promovidas por el oxígeno¹.

En la actualidad, el uso de extractos con componentes bioactivos de una variedad de productos botánicos en cosméticos cumple dos funciones: el cuidado del cuerpo y como ingredientes para influir en las funciones biológicas de la piel, proporcionando los nutrientes para una piel saludable. En general, las plantas nativas son una fuente rica de vitaminas, antioxidantes, aceites esenciales, hidrocoloides, proteínas, terpenoides y otros compuestos bioactivos. Según su composición, estos extractos pueden aportar diferentes propiedades^{1, 2}.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la especie vegetal

Fue recolectada en el distrito de Huamanguilla (3276 msnm), 13°00'40"S 74°10'24"O; provincia de Huanta, Región Ayacucho. Su clasificación taxonómica se realizó en el Museo de Historia Natural, UNMSM.

Preparación del extracto

Se utilizó 1,00 Kg de hojas secas trituradas de *Minthostachys mollis* (muña) para realizar la extracción por maceración hidroalcohólica. Se agregó 5 L de alcohol etílico y se dejó en maceración durante 6 días, agitando tres veces al día manualmente. La solución obtenida se filtró con papel Whatman N° 40 y el filtrado se llevó a secar a 40°C en una estufa con aire circulante por 3 días con el fin de obtener el extracto seco. El proceso de extracción se realizó en el laboratorio del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

El extracto seco se utilizó para realizar la prueba de solubilidad, la marcha fitoquímica, luego se visualizaron y separaron algunos metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina (CCF)³ y se determinaron los espectros UV – vis de los componentes químicos⁴.

Análisis Cromatográfico del Extracto

Mediante la técnica de cromatografía en capa fina preparativa se aislaron metabolitos secundarios. Se usó como fase estacionaria Sílica Gel G-60 y fase móvil cloroformo: metanol en la proporción de 3:1; y como revelador la lámpara de luz UV. Se obtuvieron 12 fracciones que presentaron fluorescencia a la luz UV a 366 nm.

Se llevaron al análisis espectrofotométrico UV en el rango de 200 a 400nm descartándose 6 fracciones, finalmente al analizar los espectros UV de las fracciones 1,2,5,6,7 y 11 y al comparar las longitudes de onda de los picos de cada fracción con tablas publicadas por Mabry et al. permitió proponer estructuras⁴.

Capacidad antioxidante del extracto

Se realizó utilizando los métodos 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS). La Vitamina C y el Trolox se usan como patrones de comparación para con los extractos⁵⁻⁷.

RESULTADOS

Tabla 1. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de *Minthostachys mollis* (muña)

Nº	SOLVENTES	FÓRMULA	RESULTADO
1	Agua destilada	H ₂ O	+
2	Etanol	EtOH	+++
3	Metanol	MeOH	+++
4	n-butanol	N -BuOH	++
5	Cloroformo	CHCl ₃	++
6	Acetato de etilo	EtOAc	++
7	Eter etílico	Et ₂ O	+
8	Diclorometano	CH ₂ Cl ₂	++

Leyenda: (+ + +) Muy soluble, (+ +) Soluble, (+) Poco soluble, (-) Insoluble.

Tabla2. Marcha Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de hojas de *Minthostachys mollis* (muña)

REACTIVO	RESULTADO	METABOLITO
FeCl ₃	+++	Compuestos fenólicos
Shinoda	+++	Flavonoides
AlCl ₃	+++	Flavonoides
Reactivo de Dragendorff	++	Alcaloides
Reactivo de Mayer	++	Alcaloides
Gelatina/ Na(OH)	++	Taninos
Reactivo de Molish	++	Glicósidos
Reactivo de Liberman	++	Esteroides/terpenoides
Ninhidrina	-	Aminoácidos libres

Leyenda: (+ + +) Abundante, (+ +) Regular, (+) Poco, (-) Ausencia

Tabla 3. Propuesta de componentes químicos en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Minthostachys mollis* (muña)

Nº FRACCIÓN	$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$ (nm)	ESTRUCTURA QUÍMICA PROPUESTA
1	280,330	4',5,7,8-tetrahidroxiflavona
2	274,316	5, 6, 7-trihidroxi – 4'-metoxi flavona
5	274,311	5,6, 7-trihidroxiflavona
6	282,336	5-hidroxi-3',4',6,7,8-pentametoxiflavona
7	279,338	5,7-dihidroxi-3',4',6,8-tetra metoxiflavona
11	284,335	3',4',5,6,7-pentametoxiflavanona

Tabla 4. Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Minthostachys mollis* (muña), Vitamina C y Trolox (expresado como CI_{50%}) DPPH, ABTS

	CI _{50%} (DPPH)	CI _{50%} (ABTS)
muña	136,2 ug/mL	388,9 ug/mL
Vitamina C	10,44 ug/mL	158,8 ug/mL
Trolox	10,42 ug/mL	177,9 ug/mL

Tabla 5. Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Minthostachys mollis* (muña), equivalente a Vitamina C (CAEEVC) y equivalente a Trolox (CAEET) por los métodos DPPH y ABTS

Extracto/Método	CAEEVC	CAEET	100 % Vit C	100 % Trolox
Extracto (Muña) Ante DPPH	13,046	13,071	7,66 %	7,65 %
Extracto (Muña) Ante ABTS	2,449	2,186	40,83 %	45,75 %

Mediante el método DPPH del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys mollis* (muña) y los patrones de comparación Trolox y Vitamina C, se obtuvieron un CI50 de: 136,2; 10,42; y 10,44 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Por el método DPPH el valor de la capacidad antioxidante del extracto de muña equivalente a Trolox(CAEET) fue 13,071 mg muestra/mg Trolox y el valor de la capacidad antioxidante del extracto de muña equivalente a Vitamina C(CAEEVC) fue 13,046 mg muestra /mg Vitamina C respectivamente.

2,186 mg muestra/mg Trolox y el valor de la capacidad antioxidante del extracto de muña equivalente a Vitamina C(CAEEVC) fue 2,449 mg muestra /mg Vitamina C respectivamente. (Tablas 4,5)

DISCUSIÓN

La prueba de solubilidad indica que el extracto hidroalcohólico de las hojas de muña se disuelven bien en metanol y etanol, entonces los componentes químicos del extracto analizado son de alta polaridad (Tabla 1).

El tamizaje fitoquímico mostró la presencia de alcaloides, flavonoides y triterpenos. Estos metabolitos también fueron reportados por Castillo (2010) "en extracto acuoso y metanólico de las hojas de *Minthostachys mollis*." Los flavonoides y compuestos fenólicos son los más abundantes en este extracto y estarían relacionados con el efecto antioxidante^{8,9} (Tabla 2).

A través de las pruebas cromatográficas se confirmó en el extracto hidroalcohólico la presencia de flavonoides, revelándose los cromatogramas con luz UV 366 nm.

Mediante espectroscopía UV-vis se encontró que las fracciones F1,F2,F5,F6,F7 y F11 correspondían a flavonoides del tipo de las flavonas y flavanonas, sugiriéndose como: F1 4',5,7,8-tetrahidroxiflavona, F2 5, 6, 7-trihidroxi – 4'-metoxi flavona , F5 5,6, 7-trihidroxiflavona, F6 5-hidroxi-3',4',6,7,8-pentametoxiflavona, F7 5,7-dihidroxi-3',4',6,8-tetra metoxiflavona y F11 3',4',5,6,7-pentametoxiflavanona⁴ (Tabla 3).

Respecto a la Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys mollis* (muña) (Tablas 4 y 5). La CI_{50%} corresponde a la concentración del extracto (ug/mL) que reduce en un 50% la absorbancia de una solución metanólica de DPPH como control a 517 nm. La Vitamina C y el Trolox se utilizan como referencia o control en las determinaciones de la Capacidad antioxidante. Los valores de CI50% se interpretan: a menor valor de CI_{50%} le corresponde mayor Capacidad antioxidante. Así mediante el metodo DPPH el Trolox (10,42 ug/mL) presenta mayor Capacidad antioxidante, luego sigue Vitamina C (10,44) ug/mL y la muña con menor Capacidad antioxidante (136,2 ug/mL). El valor de 13,046 significa que 13,046 ug (mg o g) de extracto de muña equivale a 1 ug (mg o g) de Vitamina C para responder el mismo efecto antioxidante mediante el método DPPH. El valor de 13,071 significa que 13,071 ug de extracto de muña equivale a 1 ug de Trolox para responder el mismo efecto antioxidante mediante el método DPPH. El valor de 2,449 significa que 2,449 ug de extracto de muña equivale a 1 ug de Vitamina C para responder el mismo efecto antioxidante mediante el método ABTS. El extracto de muña presenta una Capacidad antioxidante del 7,66 % de la Capacidad antioxidante de la Vitamina C tomado como referente mediante el método DPPH; y presenta el 7,65 % de la Capacidad antioxidante del Trolox tomado como referente mediante el método DPPH. El extracto de muña presenta una Capacidad antioxidante del 40,83 % de la Capacidad antioxidante de la vitamina C tomado como referente mediante el método ABTS.

Los resultados se encuentran dentro del rango señalado para el extracto acuoso al 10% p/v de las hojas, de *Minthostachys mollis* (muña), que fueron: 92,41 y 94,72% a 50 y 100 $\mu\text{g/mL}$ y de 94,08 y 97,27% para la vitamina C.²

Mediante el ensayo ABTS●+ se obtuvieron porcentajes de actividad antioxidante mucho más altos que por medio del método de DPPH● lo cual concuerda con datos reportados. Hay algunas razones por medio de las cuales se podría dar explicación a este hecho, la primera se basa en la longitud de onda a la cual se realizaron las medidas para cada ensayo. Para en el ensayo ABTS●+ se tomó una longitud de onda de 732 nm, mientras que, para el ensayo DPPH● se midió a 517 nm. Otra razón podría ser el mecanismo de reacción del DPPH● con los antioxidantes, lo cual está directamente relacionado con la conformación estructural de los mismos; es decir, un

antioxidante pequeño con mayor acceso al radical mostrará mejor actividad antioxidante, teniendo presente que el DPPH• está impedido estéricamente^{9,10}.

El estrés oxidativo es uno de los principales mecanismos para el envejecimiento de la piel y las condiciones dermatológicas. La radiación ultravioleta de la luz solar es el factor exógeno más común que daña la piel. La exposición continua a factores ambientales conduce a alteraciones en el tejido conectivo debido a la formación de peróxidos lipídicos y especies reactivas de oxígeno (ERO), así como a la acción de las enzimas, lo que resulta en varios trastornos de la piel.¹ La exposición a radiación ultravioleta (RUV) induce producción de cromóforos, moléculas que al absorber la luz (principalmente UVB pero también UVA) producen RL¹¹⁻¹⁴.

CONCLUSIONES

En el extracto hidroalcohólico de hojas de *Mintostachys mollis* (muña), se detectó buena presencia de flavonoides y alcaloides. Mediante CCF a escala preparativa se aislaron varias fracciones que fueron analizadas mediante espectroscopía UV-vis. Se proponen cinco flavonas y una flavanona. Mediante el ensayo de DPPH se determinó que la Capacidad antioxidante expresada como Concentración Inhibitoria al 50% (CI_{50%} ug/mL) del extracto de muña es de: 136,2 ug/mL frente al patrón Trolox de: 10,42 y de la Vit.C de 10,44 ug/mL respectivamente. Mediante el ensayo de ABTS se determinó que la Capacidad antioxidante expresada como Concentración Inhibitoria al 50% (CI_{50%} ug/mL) del extracto de muña es de: 388,9 ug/mL frente al patrón Trolox de: 177,9 y de la Vit.C de 158,8 ug/mL respectivamente. Los valores mencionados demuestran actividad antioxidante del extracto investigado por el método ABTS oscilando entre el 41 % y 46 % de los referentes Vit C y Trolox respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ribeiro A, Estanqueiro M, Oliveira B, Sousa J. Main Benefits and Applicability of Plant Extracts in Skin Care Products. *Cosmetics*. 2015; 2: 48-65.
- Castañeda C, Ramos LL. E, Ibáñez V. L. Evaluación de la Capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*. 2008; 8.
- Lock de Ugaz. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de los Productos Naturales. Segunda Edición. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994.
- Mabry T, Markhan K, Thomas M. The systematic identification of Flavonoids. New York. Heidelberg. Berlin. Ed. Springer-Verlag. 1970.
- Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm. -Wiss. U.Technol.* 1995; 28: 25-30.
- Zulueta A, Esteve M, Frígola Ana. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Elsevier. Food Chemistry*. 2009; 114: 310–316.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Elsevier*. 1999; 26(9/10): 1231-1237.
- Martínez A. Los flavonoides. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 2005.
- Castillo E. Análisis Fitoquímico y Efecto Sinérgico Protector de las Hojas de *Mintostachys mollis* y *Malva sylvestris* sobre la Mucosa Gástrica de *Rattus Rattus* Var. Albinus. [Tesis para optar el grado académico de doctor en Ciencias Biomédicas] Universidad Nacional de Trujillo. 2010.
- Anna Floegel, Dae-Ok Kim, Sang-Jin Chung, Sung I. Koo, Ock K. Chun. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011; 24: 1043–1048.
- Beserra M, Machado de Sousa P, Campos Arriaga A, Matias do Prado G, Carvalho Magalhães C. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Elsevier, Food Research International*. 2011; 44: 2155-2159.
- Castellanos G, Pérez D. Antioxidantes en Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica. 2010; 8(4): 272-277.
- Magliano J. Antioxidantes de uso tópico en Dermatología. *Tendencias en Medicina*. 2014: 91-96.
- Bickers D, Athar M. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Skin Disease. *Journal of Investigative Dermatology*. 2006; 126: 2565–2575.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Autofinanciado.