



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“IDENTIFICACIÓN PRELIMINAR DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS
DE *Plectranthus amboinicus* Y SUS PROPIEDADES
ANTIOXIDANTES”**

Tesis

Para obtener el título de

Bióloga

Presenta:

Itzia Raquel Martínez Estrada

Directora de tesis:

Dra. Ana María García Bores





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*“ El hombre es mortal por sus temores e
inmortal por sus deseos ”*

Pitágoras

Agradecimientos

Mis padres Eleazar y Adriana, gracias por el apoyo, por enseñarme el valor de la confianza y honestidad. Gracias por inculcarme el gusto por el aprendizaje, por ustedes he llegado hasta donde estoy.

A mis hermanas Rebeca y Pau, ustedes han estado conmigo siempre, gracias por hacer mi infancia muy feliz, por aguantar mi humor, por las tardes de belleza y pláticas largas.

Fernanda Fade, gracias por ser más que una amiga, contigo eh aprendido mucho de la vida.

Luis Palacios, gracias por ser mi compañero, por el apoyo y consejos, gracias por motivarme a ser mejor persona.

Dra. Anita, muchas gracias por tenerme la confianza y paciencia del mundo, gracias por transmitirme sus conocimientos, por siempre animarme y enseñarme a ver más allá de lo científico.

Dr. Memo, gracias por el amplio conocimiento compartido, por su manera tan divertida de enseñar; Dra. Montse, gracias por los consejos y largas pláticas; Mtro. Luis Barbo y Mtra. Marisol, gracias por la asesoría y tiempo dedicado.

Karen Elizabeth, gracias por ser mi amiga y compañera durante esta gran etapa.

Mis amigos durante la carrera del grupo 04, mi segunda familia, gracias por el tiempo compartido, por las risas y aventuras.

Índice de contenido

Resumen	7
Introducción	9
Marco Teórico	10
La piel	10
Epidermis	11
Dermis	11
Hipodermis	12
El cáncer de piel	12
La radiación ultravioleta	13
Radicales libres	14
Antioxidantes	16
Metabolitos secundarios	17
Alcaloides	17
Fenoles	18
Terpenos	18
Antecedentes	19
Taxonomía de <i>Plectranthus amboinicus</i>	21
Origen de <i>P. amboinicus</i>	22
Justificación	23
Pregunta científica	23
Hipótesis	23
Objetivos	24
General	24
Particulares	24
Metodología	25
1.- Colecta del material vegetal y herborización del mismo	25
2.- Extracción de los compuestos químicos por diferente polaridad	25
3.- Destilación por arrastre de vapor	26

3.1.- Primera etapa (temporada de secas)	26
3.2.- Segunda etapa (temporada de lluvias).....	26
4.- Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas	27
5.- Absorción en la luz visible y la luz ultravioleta	29
6.- Detección de los diferentes metabolitos secundarios.....	30
6.1.- Fenoles	30
6.2.- Alcaloides	30
6.3.- Glucósidos	31
6.4.- Terpenos	31
7.- Actividad antioxidante.....	31
Resultados y discusión.	33
Herborización	33
Rendimiento	34
Cromatografía de gases masas acoplado a espectrometría de masas (CG-EM).....	35
Absorción de la luz visible y la luz ultravioleta.	39
Detección de los diferentes metabolitos secundarios	41
Actividad antioxidante de <i>P. amboinicus</i>	42
Conclusiones	44
Literatura citada	45
Anexo.....	50
Cromatogramas.....	50

Índice de tablas

Tabla 1: Taxonomía de <i>Plectranthus amboinicus</i>	22
Tabla 2: Abreviaturas de aceites esenciales de <i>P. amboinicus</i>	27
Tabla 3: Variedad de metabolitos secundarios y porcentaje de abundancia de los compuestos químicos de las diferentes muestras analizadas de <i>P. amboinicus</i> en las diferentes colectas.	37
Tabla 4: Picos máximos de absorción de la luz UV y luz visible.	41
Tabla 5: Detección cualitativa de metabolitos secundarios en <i>P. amboinicus</i>	42

Tabla 6: Actividad antioxidante de <i>P. amboinicus</i>	43
---	----

Índice de figuras

Figura 1: Formación de radicales libre por ruptura homolítica.	14
Figura 2: Formación de especies reactivas de oxígeno.....	15
Figura 3: Herborización de <i>P. amboinicus</i>	33
Figura 4: Estructura de los compuestos presentes en <i>P. amboinicus</i>	38
Figura 5: Espectro de absorción del extracto metanólico.	39
Figura 6: Espectro de absorción del extracto de diclorometano.	39
Figura 7: Espectro de absorción del extracto hexánico.	40
Figura 8: Cromatograma del extracto hexánico.	50
Figura 9: Cromatograma de la partición hexánica de <i>P. amboinicus</i>	50
Figura 10: Cromatograma del aceite esencial 1 de <i>P. amboinicus</i>	51
Figura 11: Cromatograma del aceite esencial 2 (hexano).....	51
Figura 12: Cromatograma del aceite esencial 2 (acetona).	52
Figura 13: Cromatograma del aceite esencial 3 (acetona).	52
Figura 14: Cromatograma del aceite esencial 3 (hexano).	53

Resumen

En el mundo, anualmente mueren 66,000 personas por melanomas malignos y otros tipos de cáncer de piel. La principal causa de esta patología es la exposición a la radiación ultravioleta y los radicales libres que se producen en la piel ya que al incrementar pueden causar ciertos daños a las biomoléculas; por lo que la producción y consumo de antioxidantes en la dieta es de suma importancia.

Algunas plantas con estas propiedades son *Lippia graveolens* (orégano común) y especies del género *Plectranthus*, como *P. amboinicus*, la cual es nativa de Taiwán y fue introducida a América por sus cualidades organolépticas parecidas al orégano, con la que además comparte ciertos compuestos activos, que le dan un aroma similar. El objetivo principal de este trabajo fue la detección preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos de *P. amboinicus*, y conocer sus propiedades antioxidantes. Para esto se hicieron tres extractos por la técnica de maceración a partir de las partes aéreas de la planta con solventes de diferente polaridad: hexano, diclorometano y metanol.

Se obtuvo un primer aceite esencial en la temporada de secas (1) y la partición hexánica del extracto acuoso. De igual modo otros dos aceites esenciales se extrajeron de plantas crecidas en la época de lluvias; uno de estos con una planta expuesta a la radiación solar (2) y otro con la planta cultivada en la sombra (3). El extracto hexánico, los aceites esenciales y la partición hexánica se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Las cromatografías del extracto hexánico revelaron principalmente hidrocarburos y ácidos grasos. El aceite esencial 2 reveló la mayor cantidad de compuestos químicos del tipo terpénico, seguido del aceite esencial 3, la partición hexánica y el aceite esencial 1, los cuales contenía principalmente aristoleno, cariofileno, alfa cariofileno, cadineno y copaeno. Los tres extractos obtenidos con solventes de diferente polaridad fueron sometidos a un barrido en el espectrofotómetro, donde todos, absorbieron luz en el rango de la luz visible sugiriendo la presencia de algunos pigmentos fotosintéticos. De igual manera absorbieron en el rango de la luz ultravioleta, debido a la presencia de compuestos con dobles ligaduras.

En las pruebas cualitativas para la detección de metabolitos secundarios (fenólicos, alcaloides, glucósidos y terpenos), los extractos de diclorometano y metanol resultaron positivos a la mayoría de las pruebas. Los aceites esenciales y la partición hexánica dieron positivo a terpenos. Todos los extractos anteriormente mencionados tienen capacidad antioxidante.

En conclusión: *P. amboinicus* es rica en compuestos terpénicos, pero las condiciones de cultivo de influyen en la abundancia y tipo de compuestos que produce, siendo la época de secas la ideal para la obtención de aceites esenciales pues hay mayor rendimiento; mientras que en la temporada de lluvias hay más diversidad compuestos químicos. A pesar que *P. amboinicus* y *L. graveolens* comparten características aromáticas, no tienen los mismos compuestos antioxidantes.

Palabras clave: Aceite esencial, antioxidante, radiación UV, *Plectranthus amboinicus*.

Introducción

En el Informe Mundial del Cáncer 2012, la Organización Mundial de la Salud (OMS) da a conocer que en ese año se registraron 8.2 millones de nuevos diagnósticos de cáncer en general y se estima que esa cifra subirá a 22 millones anuales en las próximas dos décadas. Más del 60% de los casos se concentran en África, Asia, América Central y del Sur. En estas regiones se tiene registro de 70% de las muertes a nivel global (Organización de las Naciones Unidas ONU, 2014). Probablemente, debido a la cantidad de radiación solar que llega a estos países pues están cercanos al ecuador, la escasa protección, la falta de detección médica temprana y/o los insuficientes recursos económicos para sustentar los tratamientos (OMS, 2003).

A nivel mundial se tiene un estimado de entre dos y tres millones de casos nuevos de cáncer no melanocítico y más de 130,000 de cáncer melanocítico. Aunado a esto se considera que anualmente sucumben 66,000 personas por melanomas malignos y otros tipos de cáncer de piel en el mundo (OMS, 2003). La principal causa de esta patología es la exposición a la radiación ultravioleta (UV) y los radicales libres (RL) que se producen en la piel (Álvarez, 1995).

Los radicales libres se encuentran de una manera normal en las células. El tipo y concentración es dependiente de cada perfil celular, cuando estos disminuyen o incrementan por diferentes factores, llegan a acarrear importantes alteraciones en las estructuras celulares como las mitocondrias, el ADN o las membranas lípidicas, esto se ha relacionado con problemas como arterosclerosis, envejecimiento, epilepsia y desarrollo de tumores, entre otros (Rodríguez, 2001).

Para aminorar el estrés oxidativo es necesario el correcto funcionamiento de los sistemas antioxidantes endógenos y el consumo de antioxidantes mediante la dieta, por lo que se han estudiado plantas comestibles con este tipo de compuestos químicos, como es el caso de *Lippia graveolens* (óregano) la cual sintetiza flavonoides conocidos por su capacidad reductora (González *et al.*, 2007). De igual modo se tiene conocimientos de algunas otras

especies del género *Plectranthus*, las cuales son conocidas por su alto contenido de aceite esencial y su similitud con el óregano en cuanto a sus características aromáticas, comestibles y principios activos, dominando en el género la presencia de fenoles y sesquiterpenos, el α -copaeno, *trans*-cariofileno y óxido de cariofileno, entre otros (Bandeira *et al.*, 2011).

Debido a la similitud que presenta *P. amboinicus* con *L. graveolens*, ésta planta fue introducida a algunos países de América por sus características organolépticas, siendo este arbusto nativo de Asia oriental a pesar de ello esta especie logró adaptarse y distribuirse ampliamente por las zonas tropicales del mundo (Menéndez y Pavón, 1999). Diversos trabajos mencionan al aceite esencial de *P. amboinicus* como una fuente de metabolitos secundarios con capacidad antioxidante, como el carvacrol, timol, γ -terpineno y *p*-cimeno, los cuales son abundantes en esta planta (Muñoz-Acevedo *et al.*, 2009; Gomes *et al.*, 2014; Yuan-Siao *et al.*, 2014). Sin embargo, hasta este momento no existen estudios donde se hayan hecho extracciones con solventes de diferente polaridad en diferentes temporadas ambientales, tampoco se tiene una aproximación sobre el potencial antioxidante de sus extractos y aceites esenciales.

Marco Teórico

La piel

La piel es parte del sistema tegumentario y el órgano más grande del cuerpo humano, formado por un conjunto de células organizadas en capas con diferentes características y funciones, entre ellas la protección a patógenos, evita la pérdida de fluidos, ayuda a la regulación de la temperatura corporal y protección de factores medioambientales (Goldsmith *et al.*, 2014; American Cancer Society (ACS), 2015).

La piel se divide en tres grandes tejidos:

Epidermis

La epidermis es una capa de células con un grosor aproximado de 0.2 mm, integrada en su mayoría por queratinocitos; así mismo, la epidermis se divide en cuatro estratos: el córneo, seguido del escamoso, granuloso y basal donde se forman los queratinocitos. El estrato córneo es la capa de células más externa y por lo tanto la que se expone directamente a los factores medioambientales, formado principalmente por queratinocitos totalmente córnificados, aplanados y anucleadas (Goldsmith *et al.*, 2014; Infocancer, 2015).

El estrato granuloso se localiza por debajo del estrato córneo y se diferencia por la presencia de gránulos de queratina y queratohalina en las células, éstas ayudan a la formación de la barrera epidérmica (Goldsmith *et al.*, 2014)

El estrato espinoso se localiza por encima del basal, su nombre se debe a la apariencia que dan los desmosomas de las células, los cuales se encargan de la unión de éstas. En el estrato basal se encuentran los melanocitos productores de melanina, que es transferida a las células cercanas; este pigmento es el responsable de dar el color a la piel, y protege de los efectos dañinos del Sol. En el estrato basal se forman los queratinocitos responsables de la creación de fibras de queratina. Finalmente, se localiza la lámina basal la cual delimita la epidermis (Goldsmith *et al.*, 2015; Infocancer, 2015).

Dermis

La dermis es el tejido conectivo fibroso más grueso que la epidermis, constituida principalmente por fibroblastos productores de colágeno, proteína responsable de la elasticidad de la piel; así mismo, se encuentran vasos sanguíneos, receptores sensitivos, folículos pilosos y glándulas sudoríparas (ACS, 2015).

Hipodermis

La hipodermis está compuesta por el tejido subcutáneo adiposo, esta capa tiene la función de actuar como un aislante térmico y en la protección de lesiones físicas y mecánicas (Infocancer, 2015).

El cáncer de piel

Las células de la piel pueden desarrollar cáncer, por algunos factores genéticos como la baja cantidad de melanina, mutaciones genéticas así como por el daño inducido por factores ambientales: la contaminación, el calor, el exceso de radicales libres y la radiación solar UV, entre otros. No obstante las personas que viven en los países cercanos al Ecuador, aunque no cumplan con los factores genéticos mencionados anteriormente, también son susceptibles a sufrir este padecimiento de la piel ya que la exposición a la radiación UV es mayor, provocando daños a las moléculas de las células como el ADN y los lípidos de membrana, lo que incrementa el riesgo de poseer esta enfermedad (Friedman *et al.*, 1993; Chu y Endelson, 1999).

El cáncer de piel es uno de los más comunes en el mundo. La radiación solar, en especial la radiación ultravioleta, favorece el desarrollo de preneoplasias epidérmicas siendo esto una alteración en los queratinocitos epidérmicos (Friedman *et al.*, 1993; Chu y Endelson, 1999; Gutiérrez, 2003).

El carcinoma de piel más frecuente es el de las células basales, presentándose en 8 de 10 casos de cáncer de piel, se caracteriza por ser muy invasivo, por su cercanía a los ganglios linfáticos, sin embargo, su desarrollo es lento por lo que si se detecta y trata adecuadamente rara vez llega a metástasis (Chu y Endelson, 1999; Gutiérrez, 2003; ACS, 2015).

En la epidermis se desarrolla el melanoma. La señal más evidente de esta anomalía es su rápido crecimiento y la coloración, que puede ser café o negro cuando las células producen

melanina, sin embargo, cuando no se produce, el color del tumor será blanco o rosa. Por lo que su presencia es notoria en la piel. Este carcinoma tiene una gran capacidad de llegar a metástasis ya que invade rápidamente la dermis y los vasos sanguíneos en ella, por lo que es de suma importancia su diagnóstico y tratamiento oportuno (Chu y Endelson, 1999; Gutiérrez, 2003; ACS, 2015).

La radiación ultravioleta

La radiación UV va del rango de los 200 a los 400 nanómetros (nm) y se clasifica en tres categorías (Álvarez, 1995; Chu y Endelson, 1999; Sordo y Gutiérrez, 2013):

La UVC de mayor energía comprende de los 200 a los 290 nm. Esta es absorbida por la atmósfera terrestre, principalmente por la capa de ozono, ya que participa en la formación de la misma.

La UVB de 290 a 320 nm si puede llegar a la superficie terrestre, al tener contacto con la piel puede penetrar la epidermis. La radiación UVA (320-400 nm) es la de menor energía, capaz de penetrar más profundo hasta la dermis e inducir pigmentación inmediata o tardía, alteraciones del tejido conectivo dérmico, liberación de mediadores vasoactivos y generación de radicales libres. El daño causado por la radiación UVA y la UVB puede ser significativo para el desarrollo del cáncer de piel y metástasis, así como favorecer el estrés fotooxidativo en la piel por los radicales libres.

Radicales libres

Los radicales libres (RL) se encuentran de una manera normal en la célula y los tejidos, son particulares de cada línea celular y algunos permiten la mejor adaptación al medio ambiente. Sin embargo, cuando estos disminuyen o incrementan por diferentes factores biológicos, químicos o físicos, como la radiación UV, conducen a importantes alteraciones funcionales en la célula, al oxidar estructuras químicamente susceptibles, tal es el caso de los ácidos grasos de las membranas celulares y el ácido desoxirribonucleico (ADN) (Rodríguez, 2001; Martínez, 2005).

Un RL es un átomo o molécula que presenta en su estructura atómica uno o más electrones desapareados (impar) en su orbital externo siendo altamente reactivo, por lo que tienden a captar electrones de otras moléculas y así poder completar el orbital externo, provocando que la molécula que cedió el electrón se oxide e inicie una reacción en cadena (Rodríguez *et al.*, 2001; Avello y Suwalasky, 2006).

Los RL se pueden formar por una ruptura homolítica de los enlaces moleculares, donde cada una de las moléculas capta un electrón quedando desestabilizada formando así un RL (Flores y Ramírez, 1995; Martínez, 2005). Esto se ejemplifica en la Figura 1.

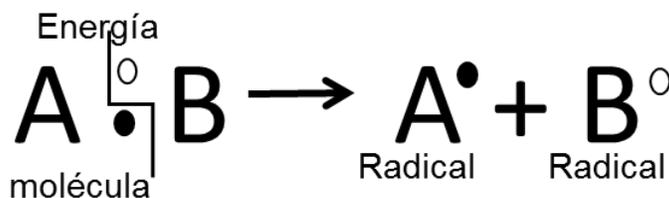


Figura 1: Formación de radicales libre por ruptura homolítica.

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son las diferentes formas químicas en las que se presenta el oxígeno molecular, de acuerdo al posicionamiento electrónico. El acomodo electrónico determina la reactividad de la molécula. Esto se puede explicar partiendo del oxígeno en estado basal (O_2). El cual es un birradical al presentar en el enlace π

antienlazante dos electrones con el mismo spin (Figura 2). A partir de esta forma y con la radiación solar como energía el spin de uno de estos electrones puede cambiar, logrando generar alguna de las dos formas de oxígeno singulete (1 y 2). La diferencia radica en la colocación de los electrones ya que si bien éstos tienen el mismo spin no tienen la misma posición en el enlace, por consiguiente solo la forma singulete 1 será el radical. Éstas dos formas de oxígeno son típicas de las plantas (Martínez, 2005).

La formación de las ERO se puede interpretar como la adquisición de un electrón, así pues si el oxígeno basal capta un electrón con un spin diferente al existente (\uparrow) este pasará de ser biradical a ser un radical superóxido. Si el superóxido acepta un electrón se formará el ion peróxido el cual no es radical al tener completo su nivel π antienlazante. Sin embargo, al aceptar un electrón más en el enlace sigma el ion será hidroxilo, considerado el más reactivo de las ERO (Montero, 1996; Rodríguez *et al.*, 2001; Venereo, 2002, Martínez, 2005).

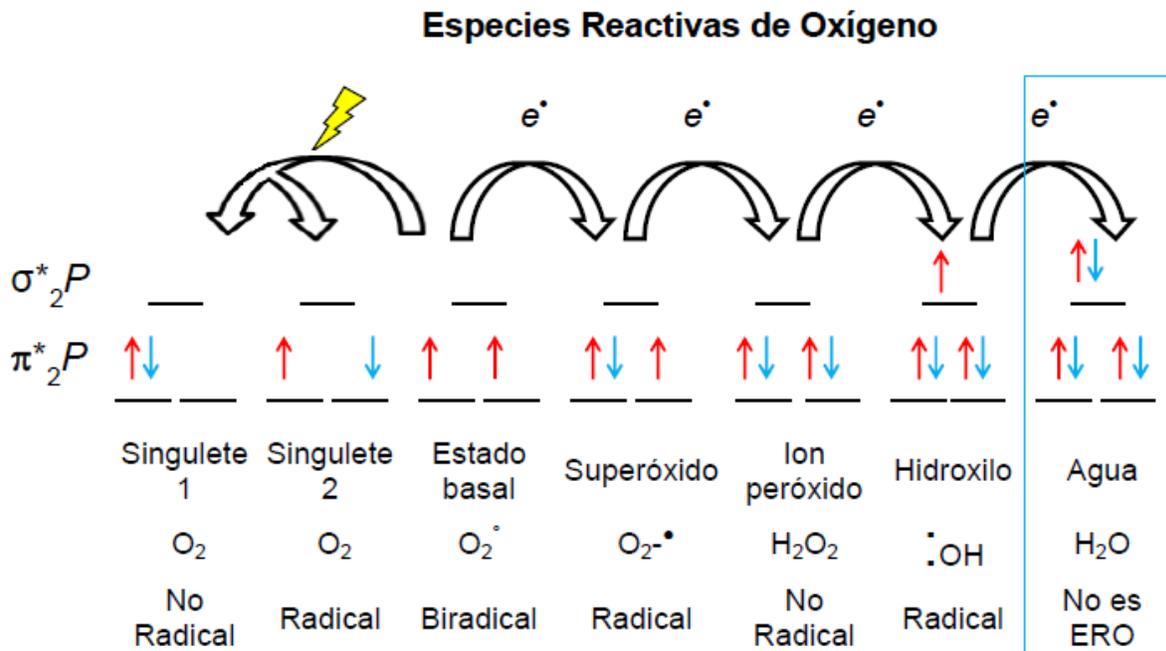


Figura 2: Formación de especies reactivas de oxígeno.

(Modificado de Montero, 1996).

Los RL son creados continuamente de manera natural como producto del metabolismo. En las mitocondrias y en las células del sistema inmune (neutrófilos, monocitos, macrófagos y eosinófilos) para defender el organismo de algunos patógenos como bacterias, virus, o parásitos (Rodríguez, 2001; Avello y Suwalaky, 2006; Castañeda *et al.*, 2008).

Sin embargo, cuando la concentración de RL aumenta la célula se expone a un estrés oxidativo, el cual es perjudicial ya que también pueden oxidar biomoléculas elementales para la vida como son los lípidos de membrana, proteínas e incluso el ADN. Para evitar estos daños en la evolución de los seres vivos aerobios se fueron seleccionando sistemas de defensa antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, los cuales donan electrones a los RL y con esto logran mantener un equilibrio en la célula (Montero, 1996; Céspedes, 2000; Avello y Suwalaky, 2006).

Antioxidantes

Cuando el organismo entra a un estado de estrés oxidativo las células activan sistemas antioxidantes enzimáticos como es la enzima superóxido dismutasa (SOD). En el humano encontramos CuZn-SOD y Mn-SOD, siendo este grupo la primera línea de defensa endógena contra las ERO. La formación y concentración de especies oxidantes en la célula estimula la producción de estas enzimas las cuales poseen un metal como centro activo, que sirve para atraer a la especie oxidante superóxido $O_2^{\circ-}$ y la metaboliza a peróxido de hidrógeno H_2O_2 (Montero, 1996; Mayor-Oxilia, 2010).

El H_2O_2 es metabolizado por la enzima catalasa (CAT) produciendo agua H_2O y oxígeno O_2 para así estabilizar la molécula y poder ser eliminada. Esta enzima se encuentra en mayor concentración en mitocondria, peroxisomas, citoplasma sobre todo las células del hígado y en los riñones. La reacción que se lleva a cabo es catalítica y peroxidativa. La enzima actúa en altas concentraciones de H_2O_2 (Montero, 1996).

Otra enzima que metaboliza el H_2O_2 a H_2O es la glutatión peroxidasa (GPx). Esta ocupa el selenio y el glutatión reducido (GSH), como agente reductor del H_2O_2 o lipoperóxido (L-

OOH), y se encuentra principalmente en el citoplasma, mitocondrias y de células del sistema inmune (Montero, 1996).

También existen otros mecanismos antioxidantes no enzimáticos, los cuales consumimos como parte de la dieta en alimentos como frutas y verduras. Unos de los antioxidantes exógenos más conocidos es el α -tocoferol (vitamina E), de naturaleza lipídica. Este neutraliza el oxígeno singulete, captura RL hidroxilo, superóxido y neutraliza peróxidos; sin embargo su poder antioxidante está limitado a un único radical libre. Este agente reductor ayuda principalmente a evitar la oxidación lipídica. El ácido ascórbico o vitamina C tiene mayor capacidad antioxidante al poder donar dos electrones no obstante su acción es principalmente en las áreas hidrofílicas. Este antioxidante actúa neutralizando el oxígeno singulete, captura RL de hidroxilo, superóxido y ayuda a la regeneración de la vitamina E. Los antioxidantes exógenos en conjunto con los sistemas endógenos ayudan a disminuir el estrés oxidativo (Montero, 1996; Castañeda *et al.*, 2008; Mayor-Oxilia, 2010).

Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son biomoléculas con diverso origen metabólico, generados por los organismos vivos para cumplir diferentes funciones como defensa de patógenos, atrayentes o como reservas de nutrientes. Sin embargo, los seres humanos le hemos dado otros usos a estos metabolitos secundarios principalmente los de origen vegetal, por ejemplo analgésicos, anticoagulantes, estimulantes y antioxidantes (García, 2010).

Alcaloides

Los alcaloides se caracterizan por tener nitrógeno en un anillo heterocíclico. Estos se encuentran distribuidos en el 40 % de las plantas. Debido al contenido de nitrógeno, son compuestos relativamente tóxicos para animales y otras plantas por lo cual, tienen diferentes funciones como de protección contra la herbívora, o como una reserva de nitrógeno. Dentro de los metabolitos secundarios. Los alcaloides se consideran el grupo más diverso en

estructuras, ya que podemos encontrar sencillos o los más complejos que además de los anillos nitrogenados, presentan un azúcar o un terpeno. Entre los alcaloides más comunes con uso medicinal se encuentran la atropina, codeína y morfina (Harborne y Baxter, 1993).

Fenoles

Los compuestos fenólicos se caracterizan por presentar uno o más anillos aromáticos y al menos un grupo hidroxilo (OH). La mayoría de estas sustancias son solubles en agua al formar puentes de hidrogeno (Harborne y Baxter, 1993).

Los fenoles tienen las propiedades físicas de ser líquidos o sólidos, con un punto de fusión bajo y punto de ebullición alto. Sus propiedades químicas características son su carácter ácido y la alta reactividad electrofílica que posee el grupo OH (Harborne y Baxter, 1993).

Los fenoles se pueden distinguir de acuerdo a la estructura o al origen, van desde los más simples como el eugenol, ácido fenólico o los fenilpropanoides. Otros más complejos son los flavonoides con una estructura heterocíclica de difenil pirano de alrededor de 15 átomos de carbono. Los fenólicos usualmente se unen a otros compuestos como alcaloides, glucósidos o terpenoides, dándoles diferentes propiedades y usos como color sabor y aromas. Con esta unión, llegan a formar compuestos como: antocianinas, chalconas, dihidrochalconas, flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles, isoflavonoides, flavandioli, taninos condensados (Harborne y Baxter, 1993; Flores y Ramírez, 1995; Zavaleta *et al.*, 2005).

Terpenos

Los terpenos son las moléculas más comunes en las plantas. Estos compuestos se caracterizan por tener una unidad básica de isopreno (C_5), el cual se une para formar los diferentes tipos de terpenoides. Los más simples son de 5 átomos de carbono, llamados hemiterpenos C_5 , seguido de monoterpenos C_{10} y sesquiterpenos C_{15} . Otros más grandes son los diterpenos C_{20} , triterpenos C_{30} , tetraterpenos C_{40} y politerpenos de más de 40

átomos de carbono. El β -caroteno y licopeno son los antioxidantes terpénicos más conocidos (Harborne y Baxter, 1993).

Antecedentes

Para aminorar el estrés oxidativo causado por los RL y la radiación UV se han estudiado las plantas con ciertos compuestos químicos antioxidantes como es el caso del orégano, *Lippia graveolens* el cual contiene diversos flavonoides: el flavonol, kaempferol, isokaempférido, pilosina; y un fenilpropanoide verbascósido, que se han demostrado tener un efecto antioxidante (González *et al.*, 2007).

En otro estudio fitoquímico con algunas plantas aromáticas entre ellas *L. graveolens* se caracterizó mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas que el aceite esencial tiene terpenos como el timol, α -cariofileno, β -cariofileno y *p*-cimeno con propiedades antimicrobianas y antioxidantes (García *et al.*, 2010).

García-Bores *et al.*, en 2017 demostraron que el extracto metanólico de *L. graveolens* contiene flavonoides como galangina, pinocembrina y naringenina. La aplicación tópica de dicho extracto mostró un efecto fotoprotector al evitar el desarrollo de tumores cutáneos inducidos por la luz UVB en ratones SKH-1, además de que tiene potencial antioxidante.

L. graveolens comparte características químicas y aromáticas con especies del género *Plectranthus* además se propone que la composición de los principios activos es similar. El género *Plectranthus* es conocido por su alto contenido de aceite esencial y algunos compuestos que se encuentran en él son fenoles y sesquiterpenos, como el α -copaeno, *trans*-cariofileno y óxido de cariofileno, β -cariofileno, carvacrol y el timol, *p*-cimeno y γ -terpineno (Bandeira *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2014; Yuan-Siao *et al.*, 2014).

García *et al.*, en 1996 en Cuba, trabajaron con el extracto acuoso, de acetato de etilo y el aceite esencial de *P. amboinicus*. En ambos extractos encontraron flavonoides, flavonas y flavanonas. Además, comprobaron que efecto antioxidante es superior al de la vitamina E, al eliminar los RL de la oxidación lipídica capaces de reaccionar con el ácido tiobarbitúrico

(TBA) y sus derivados.

Jia-Ming *et al.*, en 2007 caracterizaron químicamente el extracto acuoso de *P. amboinicus* en Taiwán encontrando mayormente Δ -3-careno, γ -terpineno, camfor y carvacrol.

Muñoz-Acevedo *et al.*, en 2009 en Colombia estudiaron los aceites esenciales de plantas ricas en carvacrol, timol y estragol, entre las especies analizadas reportan a *P. amboinicus*. Los principales componentes que encontraron fueron el carvacrol (53.7%), γ -terpineno (10.6%) *p*-cimeno (8.6%) y timol (0.9%), los cuales tuvieron actividad antioxidante superior al de la vitamina E.

En el 2010 Senthilkumar y Venkatesalun en Tamil Nadu, India, estudiaron la química de *P. amboinicus*, encontrando como principales compuestos carvacrol (28.65%) timol (21.66%), α -humuleno (9.67%), undecanal (8.29%), γ -terpineno (7.76%), *p*-cimeno (6.46%), óxido de cariofileno (5.85%), α -terpineol (3.28%) y β -selineno (2.01%).

P. amboinicus se caracteriza por presentar 87.16% de agua y un 43 % de aceite esencial. Entre los compuestos que se encuentran en esta especie están los sesquiterpenos y fenoles algunos de estos son característicos de la especie, y otros tantos los comparte con las especies del género, como son el *trans*-cariofileno, óxido de cariofileno y β -bourboneno (Bandeira *et al.*, 2011).

Yung-Jia *et al.*, en 2012 encontraron que el extracto acuoso y el aceite esencial de *P. amboinicus* en su mayoría contenía carvacrol, seguido por timol, α -humuleno, undecanal, terpineno, γ -terpineno, *p*-cimeno, óxido cariofileno α -terpineol y β -selineno. También comprobaron que el extracto de *P. amboinicus* tiene efectos anti inflamatorios y analgésicos, relacionado con la modulación de las actividades de las enzimas antioxidantes en el hígado de ratón y por disminuir el nivel de malondialdehído causados por sustancias como formalina, ácido acético y carragenina.

Dos Santos *et al.*, en 2015 en Brasil, identificaron químicamente el aceite esencial de la planta *P. amboinicus* encontrando *p*-cimeno (12.01%), γ -terpineno (14.74%), carvacrol

(37.70%), y (*Z*)-cariofileno (14.07%).

Taxonomía de *Plectranthus amboinicus*.

La planta de *P. amboinicus* pertenece a la familia Lamiaceae, (Tabla 1) anteriormente llamada *Labiatae*. Esta familia se presenta en diversas formas de vida, como arbustos hierbas anuales o perennes, entre otros, tiene tallos prismáticos-cuadrangulares, hojas opuesto-cruzadas, sésiles o pecioladas, simples con borde aserrado. Se caracteriza por presentar plantas aromáticas rara vez suculentas. Las especies de esta familia más conocidas son la albahaca, hierbabuena y los oréganos (Sánchez, 1980).

El género *Plectranthus* tiene una forma de vida arbustiva, hojas con tricomas, pecioladas y usualmente suculentas. Otra característica es que son muy aromáticas (García *et al.*, 1996).

P. amboinicus es una hierba y/o arbusto perenne, suculento, de hojas anchas y bordes aserrados, peciolo gruesos y flores violetas en espigas terminales, la planta tiene un periodo de vida de 3 a 10 años, se distribuye ampliamente en las regiones tropicales de África, Asia, Australia, y América (Menéndez y Pavón, 1999; Jia-Ming *et al.*, 2007; Senthilkumar y Venkatesalun, 2010).

Tabla 1: Taxonomía de *Plectranthus amboinicus*.

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophita
Clase	Magnoliopsoda
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Subfamilia	Neptoideae
Tribu	Ocimeae
Género	<i>Plectranthus</i>
Especie	<i>Plectranthus amboinicus</i>

Origen de *P. amboinicus*

La especie *P. amboinicus* es nativa de Asia oriental e introducida a las Antillas y algunos países de América, como especia por sus características aromáticas (Menéndez y Pavón, 1999). Esta planta es conocida como orégano francés, órganon, menta mexicana, orégano brujo u orégano cubano. Es utilizada como medicina tradicional para tratar malestares como la tos, fiebre, dolor de garganta, paperas y la picadura de mosquito (Yung-Jia *et al.*, 2012).

Justificación

La radiación solar a la que nos exponemos a diario en conjunto con el incremento de los radicales libres que se generan en la piel, favorecen la formación de cáncer de piel, una alternativa de prevención contra esta enfermedad es el consumo de antioxidantes, los cuales están presentes en plantas que consumimos usualmente como *Lippia graveolens*. Por lo que es preciso estudiar plantas similares químicamente a *L. graveolens* buscando la ventaja de la distribución territorial y la adaptación a los cambios climáticos como es el caso de *P. amboinicus*.

Pregunta científica

¿*Plectranthus amboinicus* tendrá compuestos con capacidad antioxidante similares a los presentes en *Lippia graveolens*?

Hipótesis

L. graveolens y algunas especies del género *Plectranthus* tienen compuestos con capacidad antioxidante como carvacrol timol y *p*-cimeno. Debido a esto *P. amboinicus* tendrá compuestos iguales o similares que captan radicales libres como los generados en la piel que son precursores de cáncer.

Objetivos

General

Caracterizar preliminarmente los compuestos químicos de los extractos de *Plectranthus amboinicus* y conocer sus capacidades antioxidantes.

Particulares

- Obtener de la parte aérea de *P. amboinicus* tres extractos de diferente polaridad con solventes orgánicos: hexano, diclorometano y metanol.
- Hacer una comparación general de los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales obtenidos bajo diferentes condiciones de cultivo y temporadas del año.
- Obtener una partición hexánica del extracto acuoso de *P. amboinicus* cultivada en la época de secas.
- Determinar el patrón de absorción por espectrofotometría de los extractos obtenidos con metanol, diclorometano y hexano de *P. amboinicus* en la luz UV y la luz visible.
- Separar e identificar por CG-EM los componentes del extracto hexánico, la partición hexánica y los aceites esenciales de *P. amboinicus*.
- Caracterizar químicamente los extractos orgánicos; aceites esenciales y la partición hexánica de *P. amboinicus* mediante la detección cualitativa de metabolitos secundarios.
- Conocer cualitativamente la capacidad antioxidante de los extractos, los aceites

esenciales y la partición hexánica de *P. amboinicus*.

- Comparar bibliográficamente de los compuestos químicos hallados en *P. amboinicus* contra los presentes en *L. graveolens*.

Metodología

1.- Colecta del material vegetal y herborización del mismo

La planta de *P. amboinicus* se obtuvo en Xalisco Nayarit (latitud $N 21^{\circ}26' 42.68''$ y longitud $E 104^{\circ} 53' 34.45''$ a una altura de 983 m.s.n.m.).

La parte aérea de la planta fue secada para su herborización, identificación e incorporación al herbario IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

La planta de *P. amboinicus* se propagó en el laboratorio de Fitoquímica y se cultivó bajo dos condiciones ambientales diferentes una de sombra y otra expuesta a la radiación solar.

2.- Extracción de los compuestos químicos por diferente polaridad

La obtención de los extractos orgánicos se hizo por la técnica de maceración. Esta se basa en la transferencia selectiva de la mezcla desde una parte sólida o líquida, hacia una fase líquida (disolvente orgánico) y posteriormente los compuestos pasarán a estar en el solvente. El éxito de la técnica depende básicamente de la diferencia de solubilidad del disolvente de extracción entre la mezcla, así como la polaridad de los compuestos presentes en la mezcla (Domínguez, 1984).

Las hojas de *P. amboinicus* obtenidas en Nayarit se secaron a la sombra. Aproximadamente 9.30 gr se pusieron cortadas en trozos en un matraz por 48 hrs para su maceración para cada uno de los solventes (hexano, diclorometano y metanol) para así poder extraer la mayor cantidad de compuestos según su polaridad.

3.- Destilación por arrastre de vapor

La destilación por arrastre de vapor es una técnica utilizada para la separación de compuestos insolubles en agua, donde los compuestos semivolátiles y volátiles reciben el calor que les permite llegar a un punto de evaporación diferente al del resto de los compuestos solubles y así lograr la separación de la mezcla acuosa, sin embargo, no es hasta que se lleva la precipitación de la mezcla gaseosa que se puede apreciar una separación total entre el aceite esencial y el agua que se utilizó para el arrastre (Dominguez, 1990; Peredeo-Luna *et al.*, 2009).

3.1.- Primera etapa (temporada de secas)

Para obtener el aceite esencial (A.E. 1) se pesaron 267.83 gr de planta (hojas y tallos) obtenida en Nayarit y se pusieron en un matraz con agua para la extracción por arrastre de vapor. De la parte acuosa o extracto acuoso se hizo una P. Hexánica.

3.2.- Segunda etapa (temporada de lluvias)

Se pesaron 194.38 gr de planta, expuesta a radiación solar (A.E. 2), se pusieron en un matraz con agua para la obtención del aceite esencial por medio del arrastre de vapor. Se hizo lo mismo con otra parte de planta 135.02 gr cultivada a la sombra (A.E. 3) en el laboratorio de Fitoquímica de la FES Iztacala (Tabla 2).

Tabla 2: Abreviaturas de aceites esenciales de *P. amboinicus*.

Abreviatura	Condiciones de cultivo de <i>P. amboinicus</i>
A.E. 1	Aceite esencial obtenido de la planta cultivada en la temporada de secas.
P. Hexánica	Partición hexánica obtenida del extracto acuoso de la planta cultivada en temporada de secas.
A.E. 2	Aceite esencial obtenido de la planta cultivada en la temporada de lluvias y expuesta a la radiación solar.
A.E. 3	Aceite esencial obtenido de la planta cultivada en la temporada de lluvias y cultivada bajo la sombra.

4.- Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

La cromatografía de gases (CG) es una herramienta potente para separar, identificar tentativamente y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas (Gutiérrez y Droguet, 2002). La primera cromatografía de gases se llevó a cabo en 1952 por James y Martin, lo más importante en esta técnica es la capacidad de evaporación de la muestra ya que esto ayuda a que la mezcla se separe, para así lograr que el gas inerte lleve la muestra por el capilar (Kitson *et al.*, 1996).

En la CG la mezcla se inyecta a un gas inerte (N, Ne He) el cual es la fase móvil. En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria una columna capilar fija. La columna se encuentra dentro de un horno que alcanza una temperatura de entre 350 y 400°C. La velocidad de migración de cada componente y el tiempo de retención en la columna estará en función de la distribución entre la fase móvil y la estacionaria (Kitson, 1996; Gutiérrez y Droguet, 2002).

Cada compuesto de la muestra tiene una diferente afinidad hacia la fase estacionaria y la móvil, éstos se separan según la similitud; si el compuesto es afín a la fase estacionaria su movimiento será más lento y permanecerá más tiempo en la columna; y viceversa si su

afinidad es hacia la fase móvil este compuesto saldrá más rápido de la columna (Gutiérrez y Droguet, 2002).

Un factor físico muy importante es la presión de vapor de la mezcla, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna por el contrario a menor presión de vapor mayor tiempo de retención. Debido a esta diferencia de afinidad y tiempo de retención, los componentes de la muestra se separan lo suficiente para ser analizados cualitativa y cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados (Gutiérrez y Droguet, 2002).

La CG sólo se utiliza cuando los compuestos de la solución son volátiles o semivolátiles y térmicamente estables a temperaturas de hasta 400°C. Al tener separados los constituyentes se comparan con una biblioteca de información, sin embargo, puede haber diferentes elementos que presenten actúen de una manera similar bajo las mismas condiciones de temperatura y presión, por ejemplo los isómeros, lo cual nos da una identificación errónea. Por lo que se recurre a otra técnica de análisis cualitativo, al acoplar la capacidad de separación de la cromatografía con la capacidad de la identificación de la espectrometría de masas (Kitson, 1996; Gutiérrez y Droguet, 2002).

Espectrometría de masas (EM) es un proceso de ionización de la mezcla por diferentes métodos. Uno de los más utilizado es el de impacto electrónico En este se bombardean las moléculas con electrones, los cuales provocan la emisión estimulada de un electrón de cada una de las moléculas y así poder ionizarlas (Gutiérrez y Droguet, 2002).

Además de las moléculas ionizadas, también se fragmentan por la descomposición de los iones moleculares. Cada molécula tiene un tipo y proporción relativa de ionización según sean las condiciones de ionización. Una vez que todas las moléculas están ionizadas, se aceleran y se conducen hacia el sistema colector mediante campos eléctricos-magnéticos. Dependiendo la masa de la molécula, esta alcanzará cierta velocidad. La detección de cada uno de los iones pegados a las moléculas permite formar un espectro de masas de la sustancia, que es diferente para cada compuesto químico (Kitson, 1996; Gutiérrez y Droguet, 2002).

El extracto hexánico, la partición hexánica y los aceites esenciales de *P. amboinicus*, se separaron y analizaron sus componentes en un cromatógrafo de gases acoplado a masas marca Agilent Technologies, modelo 6850 con una temperatura en el inyector de 250°C modo de inyección split con un ratio de 33.5 al flujo de helio 0.9 ml/min, temperatura del horno de 70°C durante 2 min, rampa de calentamiento de 15°C/min hasta llegar a 290°C, así se mantiene durante 5 minutos. Una columna HP-5MS de 30 m, 0.25 mm de diámetro y una película de 0.25 µm acoplada a un espectro de masas marca Agilent Technologies 5975 C VL MSD a una temperatura fuente de ionización de 230°C, y una temperatura del cuadrupolo de 150°C para la separación de sus componentes y su identificación química a partir de la información guardada en la biblioteca del espectrómetro de masas NIST VEN 8.0 (Gutiérrez y Droguet, 2002).

5.- Absorción en la luz visible y la luz ultravioleta

La espectrofotometría es una técnica donde se aprovecha la absorción de luz UV y visible, esto depende de la estructura electrónica y el salto electrónico de un estado basal a uno excitado de mayor energía. La absorción de energía resultante arroja un nivel de absorción característico para cada tipo de compuesto. Sin embargo la absorción de la luz UV está limitada a las moléculas con dobles ligaduras, cuando se cuenta con un anillo aromático o con dobles ligaduras conjugadas la longitud de onda absorbida será mayor, tanto que incluso puede llegar a la región de luz visible (Silverstein *et al.*, 1981).

Los tres extractos de *P. amboinicus* obtenidos con solventes de diferente polaridad, a distintas concentraciones (200, 100 o 50 µg/mL), fueron sometidos a un barrido por espectrofotometría de 200 a 800 nm en cubetas de cuarzo, para obtener las diferentes longitudes de onda a las que es absorbida la luz UV y visible. Con un espectrofotómetro marca PG instruments Ltd, modelo T80 + UV / Vis.

6.- Detección de los diferentes metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios se identificaron a partir de pruebas cualitativas colorimétricas estas se le aplicaron a los extractos, la partición hexánica y los aceites esenciales de *P. amboinicus*.

En diferentes tubos de ensayo se colocaron los extractos a una concentración de 1mg/mL de cada uno de los siguientes extractos: hexánico, diclorometano, metanólico, la partición hexánica y los aceites esenciales para la detección de alcaloides, fenólicos y glucósidos.

6.1.- Fenoles

La reacción de cloruro férrico (FeCl_3), para la detección de compuestos fenólicos produce diferentes colores de acuerdo al tipo de fenol; si da una coloración verde sugiere derivados del catecol y si da una coloración azul derivado del pirogalol (Domínguez, 1984; Marcano y Hasegawa, 2002).

Primero se pusieron en promedio 10 gotas de cada uno de los extractos en tubo de ensayo después se les agregaron 4 gotas de FeCl_3 . Posteriormente, se observó si había algún cambio de coloración a verde o azul.

6.2.- Alcaloides

6.2.1 El reactivo de Mayer (HgCl_2 y KI) identifica la presencia de alcaloides formando un precipitado entre blanco y crema. Se colocaron en cada tubo de ensayo 10 gotas de cada uno de los extractos, posteriormente se agregaron 4-5 gotas de reactivo de Mayer. (Domínguez, 1984; Marcano y Hasegawa, 2002).

6.2.2 El reactivo de Dragendorff (tetrayodo bismuto de potasio) muestra la presencia de

alcaloides produciendo una coloración naranja rojiza (Marcano y Hasegawa, 2002). Se agregaron de 5-8 gotas de los extractos posteriormente se adicionaron 5 gotas del reactivo de Dragendorff.

6.3.- Glucósidos

El reactivo de Molish (α - Naftol en metanol y ácido sulfúrico H_2SO_4) al detectar la presencia de glucósidos forma un anillo púrpura (Marcano y Hasegawa, 2002). Se pusieron 10 gotas de los extractos en los tubos de ensayo con 5 gotas de α -Naftol al 5%. Posteriormente, se les suministro una gota del reactivo H_2SO_4 .

6.4.- Terpenos

Para la detección de terpenos se hace una reacción con vainillina, la cual cambia a color rosa-morado. Se ocupa una placa de sílica donde se pondrá una muestra del extracto problema y seguido a esto unas gotas del reactivo vainillina. Se ocupó una placa marca Merck sílica gel 60 f 254, se etiquetó y colocó con un capilar un poco del extracto, una vez seco se le asperjó una solución de vainillina y después para revelar se utilizó ácido sulfúrico (H_2SO_4) en esta prueba todos los extractos, la partición hexánica y el primer aceite esencial (Domínguez, 1984).

7.- Actividad antioxidante

El reactivo 2, 2 difenil-1 picrilhidracilo (DPPH) es un RL utilizado para la identificación de la actividad antioxidante de una sustancia. Esta técnica se basa en la capacidad de captar radicales libres del extracto. Cuando el radical DPPH tiene un electrón desapareado es de color azul violeta, sin embargo, si la sustancia problema tiene capacidad antioxidante provocará que el radical DPPH se reduzca y mostrando una decoloración a un color amarillo (Castañeda *et al.*, 2008).

La actividad antioxidante de los extractos, los aceites esenciales y la partición hexánica de *P. amboinicus* fue detectado con la prueba cualitativa con 2, 2 difenil-1 picrilhidrazilo (DPPH). En una placa marca Merck sílica gel 60 f 254, con ayuda de un capilar se colocaron cada uno de los extractos por separado, se dejó secar y posteriormente con un ísopo se humedeció con DPPH para así conocer la actividad antioxidante de cada uno, esperando un cambio de coloración de púrpura a amarillo en el caso de que la mezcla fuera antioxidante.

Debido al bajo rendimiento obtenido para cada extracto, las pruebas cuantitativas de la actividad antioxidante no se pudieron realizar.

Resultados y discusión.

Herborización

La planta fue identificada como "*Plectranthus amboinicus*". El ejemplar herborizado fue incorporado al herbario IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala con el número de registro 2424-IZTA (Figura 3).



Figura 3: Herborización de *P. amboinicus*.

Rendimiento

El rendimiento del extracto hexánico de las partes aéreas de *P. amboinicus* fue de 0.20%, el del extracto de diclorometano fue de 0.21% y del metanólico de 0.15%; teniendo un rendimiento total de 0.57%.

El extracto de diclorometano tuvo el mayor rendimiento, seguido del hexánico y el metanólico. En la mayoría de las investigaciones que se han realizado con *P. amboinicus*, sólo obtuvieron el rendimiento de los aceites esenciales y no el de extractos polares de igual modo tampoco se han analizado químicamente.

El rendimiento del primer aceite esencial (A.E. 1) fue de 0.87%. El rendimiento de los aceites obtenidos en la época de lluvias expuesta a la radiación solar (A.E. 2) y a la sombra (A.E. 3) fueron de 0.29% y 0.07% respectivamente.

El aceite esencial 1 obtenido en época de secas presentó un rendimiento mayor que el de los aceites obtenidos en la época de lluvias. Yung-Jia *et al.*, en 2012 en Taiwán con 6 kg de planta obtuvieron un rendimiento de 0.95%. Siendo este último valor cercano al obtenido en este trabajo, teniendo como diferencias la cantidad de planta utilizada.

En cuanto al aceite esencial obtenido en la temporada de lluvias el rendimiento fue menor en la planta que creció en la sombra (0.07%) en comparación con la planta crecida bajo la radiación solar (0.29%) siendo estos últimos rendimientos menores al obtenido en época de secas (0.87%). Esto coincide con lo reportado por Carneiro *et al.*, en 2010 en Brasil, ya que al igual que el presente trabajo reportan que en temporada de lluvias el rendimiento del aceite esencial de *P. amboinicus* es menor que el obtenido en la temporada de secas.

Bandeira *et al.*, en 2011 en Brasil, reportan para 100 g de hojas *P. amboinicus* un rendimiento de 0.32% del aceite esencial extraído en temporada de lluvias. Siendo esto es similar a lo encontrado para el aceite esencial 2 (0.29%) y 3 (0.07%) en el presente trabajo.

Menéndez y Pavón en 1999, mencionan que la mejor edad para obtener el aceite esencial de *P. amboinicus* es en el primer corte que se le haga a la planta después de los primeros cinco meses de edad. Estas investigaciones nos indican que la mayor cantidad de aceite esencial se encuentra en las hojas, influyendo la región de colecta, las condiciones medio ambientales y el método de extracción.

Cromatografía de gases masas acoplado a espectrometría de masas (CG-EM)

Los análisis de los extractos de *P. amboinicus* por CG-EM de los extractos mostraron resultados variados. El extracto hexánico de *P. amboinicus* tuvo compuestos de tipo hidrocarburo, ácidos grasos y algunos terpenos como copaeno y germacreno *D* con un porcentaje de abundancia de 28.53. Lo obtenido en este trabajo no ha sido reportado por algún autor anteriormente (Tabla 3).

En la partición hexánica se detectaron 9 compuestos dentro de los que destacan: β -cubebeno (7.62%), copaeno; cadineno; cariofileno y α -cariofileno (Figura 4)

En el cromatograma del A.E. 1 de *P. amboinicus* se encontraron 8 compuestos principalmente sesquiterpenos como son: copaeno; cariofileno y α -cariofileno. El terpeno más abundante fue el 3-Careno, con una abundancia de 11.07%.

El A.E. 2 presentó la mayor cantidad de compuestos (17) seguido del A.E. 3 el cual contiene 16 compuestos del tipo terpénico, en los dos aceites el Germacreno *D* destaco por su porcentaje abundancia superior al 10% estos últimos aceites tuvieron mayor variedad en comparación con el A.E. 1 (Tabla 3).

Bandeira *et al.*, en 2011, en Brasil, encontraron en el aceite esencial de *P. amboinicus* principalmente sesquiterpenos, al igual que este estudio encontraron copaeno, cariofilenos, germanacreno y cadineno. Ellos reportan que el género *Plectranthus* presenta principalmente cariofilenos, lo cual coincide con nuestros resultados.

Manjamalai y Berlin en 2012 en Coimbatore, India, reportaron como principales componentes del aceite esencial de *P. amboinicus* al carvacrol, timol, *cis*-cariofileno, *trans*-cariofileno, *p*-cimeno, en un 96%. Estos últimos compuestos también fueron encontrados en el presente trabajo.

Oliveira *et al.*, en 2011 obtuvieron aceites esenciales de *P. amboinicus* en diferentes estaciones del año y encontraron que en primavera se pueden detectar mayor diversidad de compuestos químicos como timol, γ -Terpineno, α -humeleno y terpina-4-ol *o*-cimeno y *E*-cariofileno, en comparación con los encontrados en el invierno donde la diferencia fue marcada por la presencia del óxido de cariofileno. Estas diferencias obtenidas en diferentes temporadas son similares a las presentadas en el presente estudio, tanto en el extracto hexánico, el primer aceite esencial y la partición hexánica, ya que no se detectaron tantos metabolitos secundarios, en cambio en el segundo y tercer aceite se encontraron más compuestos químicos. Así mismo, dentro de esta categoría el segundo aceite obtenido de la planta expuesta a la radiación solar sintetizó más metabolitos que la planta crecida a la sombra (Tabla 3).

Tabla 3: Variedad de metabolitos secundarios y porcentaje de abundancia de los compuestos químicos de las diferentes muestras analizadas de *P. amboinicus* en las diferentes colectas.

Compuesto	Extracto						
	Extracto Hexánico	Partición Hexánica	A. E. 1 Secas	A. E. 2 Lluvias luz		A. E. 3 Lluvias sombra	
				hexano	acetona	hexano	acetona
α -Cariofileno		3.22	3.34	6.15	7.99	3.65	0.24
Cariofileno		4.28	3.50	7.42	8.10	3.90	
α -Cadinol				3.72	7.02	3.08	
α -Gurjuneno		0.27		0.59	0.66	0.27	
α -Terpineno				13.35	5.32	5.64	
β -Gurjuneno o aristoleno		0.57	0.80	2.11	1.09	1.39	
β -Cimeno			1.73	7.18	1.95		
β -Cubebeno		7.62					
β -Ocimeno				1.33		1.04	
Carvacrol						6.78	
3-Careno			11.07	1.02	5.21	1.16	
Copaeno	4.30	4.28	4.15	5.11		3.98	0.21
Germacreno D	28.53		3.22	12.88	14.46	10.35	
ρ -Cimeno		0.48				2.51	
γ -Cadineno				1.68			
γ -Terpineno		0.66		10.75	6.56	6.06	
δ -Cadineno		4.11	3.60		7.34	3.71	0.31
Naftaleno,1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-				0.68	0.75	0.61,0.67,1.53	
Naftaleno,1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, (1S-cis)-				5.26	2.42	0.67	
Linalool				1.64			
Timoquinona		1.08					

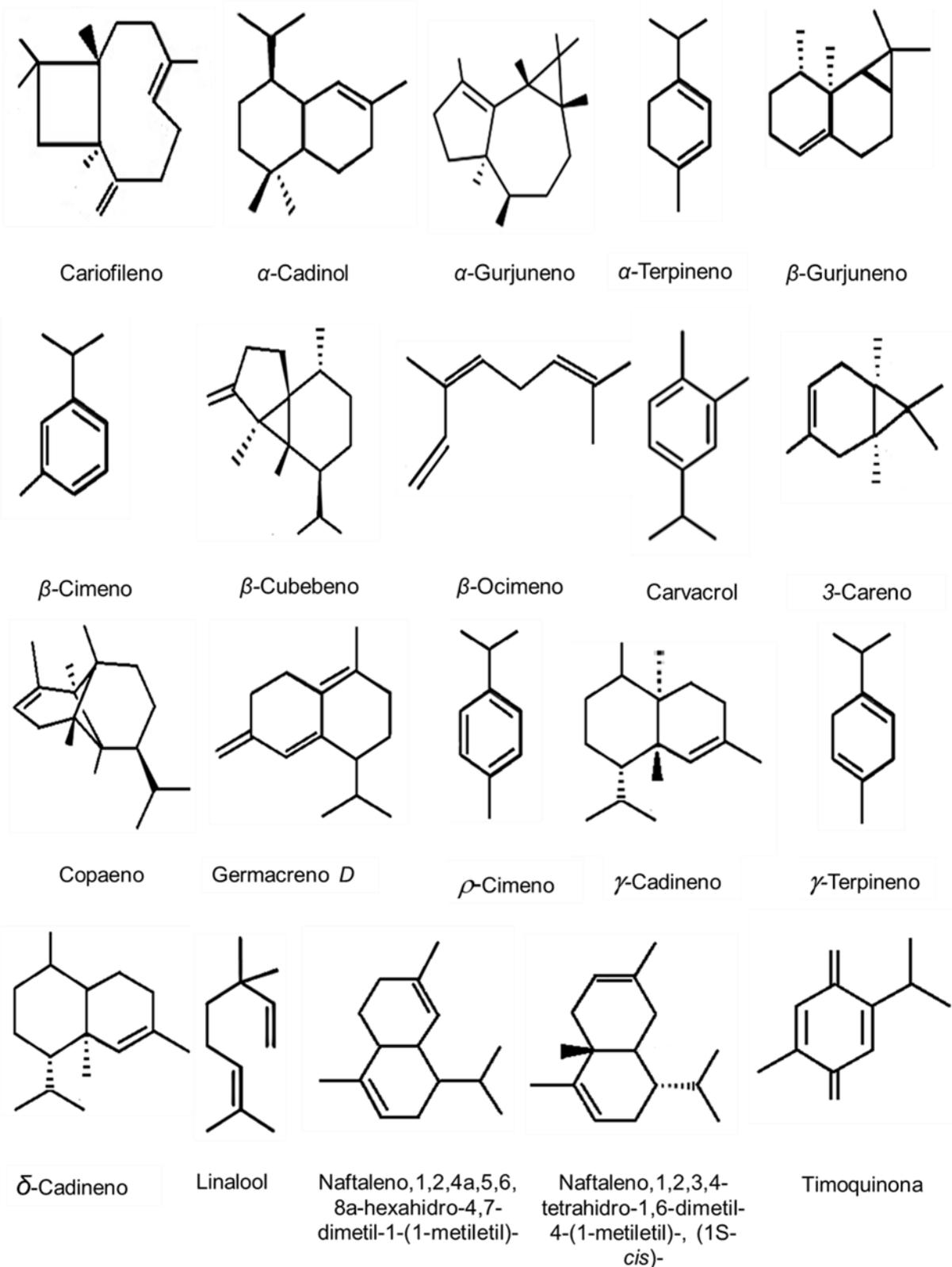


Figura 4: Estructura de los compuestos presentes en *P. amboinicus*.

Absorción de la luz visible y la luz ultravioleta.

El extracto metanólico de *P. amboinicus* absorbió en el rango de la luz UV a 325 nm y 385 nm en diferentes concentraciones 200 µg/mL y 100 µg/mL (Figura 5).

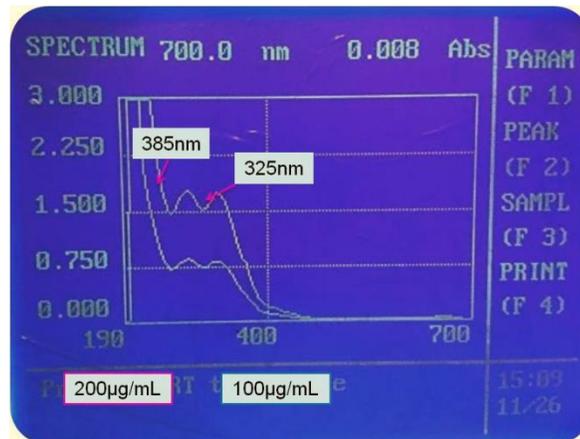


Figura 5: Espectro de absorción del extracto metanólico.

El extracto de diclorometano de *P. amboinicus* también en dos concentraciones (100 µg/mL y 50 µg/mL) absorbió en la luz visible a 455, 535 y 665 nm, sin embargo, la concentración 50 µg/mL también absorbió luz a 415 nm. En el área de la luz UV absorbió a 275, 330 y 365 nm (Figura 6).

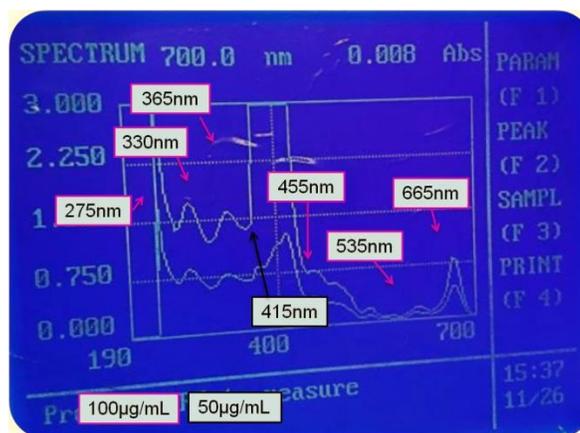


Figura 6: Espectro de absorción del extracto de diclorometano.

El extracto hexánico de *P. amboinicus* fue similar al de diclorometano a una única concentración 200 µg/mL en este hubo 7 picos de absorción, cinco en la luz visible a 415, 450, 475, 530 y 670 nm y dos en el rango de la luz UV a 265 y 320 nm (Figura 7).



Figura 7: Espectro de absorción del extracto hexánico.

El extracto de hexano y el de diclorometano presentan absorbancias similares en la luz visible 450, 670 y 455, 665 respectivamente, siendo estos valores similares y/o iguales a los absorbidos por pigmentos fotosintéticos como la clorofila, carotenos, etc. (Manrique, 2003).

Los tres extractos tuvieron un rango de absorción la luz UV 265, 320; 275, 330 y 325, 385 (Tabla 4). Lo que nos indica la presencia compuestos con dobles ligaduras (Manrique, 2003), los cuales coinciden con los valores de absorbancia de los compuestos en los extractos de diclorometano y hexano.

Debido a la polaridad del metanol se espera que los compuestos extraídos sean de alta polaridad como los flavonoides, los cuales absorben a una longitud de onda de alrededor de 366 nm lo que le permite absorber la luz (Castañeda *et al.*, 1996).

Tabla 4: Picos máximos de absorción de la luz UV y luz visible.

Extracto	Luz UV (nm)	Luz Visible (nm)
Metanol	325, 385	--
Diclorometano	275, 330	455, 535, 665
Hexano	265, 320	450, 475, 530, 670

Detección de los diferentes metabolitos secundarios

El extracto de diclorometano y el de metanol de *P. amboinicus* fueron positivos a la mayoría de las pruebas cualitativas de metabolitos secundarios (Tabla 5).

La partición hexánica y los aceites esenciales, dieron positivo para terpenos. El extracto metanólico solamente presentó fenólicos. Finalmente, para los glucósidos dieron positivo los extractos de hexano diclorometano y mayormente el metanólico. No se han reportado trabajos donde se evalúen extracciones de diferente polaridad de *P. amboinicus*.

Jung-Yia en 2012, en el extracto acuoso y el aceite esencial de *P. amboinicus* encontraron principalmente terpenos.

García *et al.*, en 1996 en Cuba trabajaron con el extracto acuoso, de acetato de etilo y el aceite esencial de *P. amboinicus* y encontraron flavonoides, flavonas y flavononas. Bandeira *et al.*, en 2011 encontraron en el aceite esencial de *P. amboinicus* principalmente sesquiterpenos. Lo reportado en estos trabajos coincide con lo obtenido para el aceite esencial.

Tabla 5: Detección cualitativa de metabolitos secundarios en *P. amboinicus*
 - sin coloración; + coloración tenue; ++ coloración fuerte.

Extracto/Prueba	Fenólicos	Alcaloides		Glucósidos	Terpenos
	Cloruro férrico	Mayer	Dragendorff	Molish	Vainillina
Hexano	-	-	-	+	+
Diclorometano	-	-	+	+	+
Metanol	+	-	-	++	+
P. Hexánica	-	-	-	-	++
A. E. 1	-	-	-	-	++
A. E. 2	-	-	-	+	++
A. E. 3	-	-	-	+	++

Actividad antioxidante de *P. amboinicus*

Todos los extractos, la partición hexánica y los aceites esenciales de *P. amboinicus* tuvieron capacidad de reducir el radical DPPH con lo que se comprueba que estos tienen poder antioxidante (Tabla 6).

Tabla 6: Actividad antioxidante de *P. amboinicus*
 -poca coloración; + coloración tenue; ++ coloración fuerte

Extracto	Reducción del radical DPPH
Hexánico	+
Diclorometano	+
Metanólico	++
P. Hexánica	++
A. E. 1	++
A. E. 2	++
A. E. 3	++

García *et al.*, en 1996 demostraron el efecto antioxidante del extracto acuoso y el aceite esencial de *P. amboinicus* superior al α -tocoferol, atribuyéndole esto principalmente a los flavonoides presentes en *P. amboinicus*.

Manjamalai y Berlin en 2012 hicieron varios estudios para probar el efecto antioxidante del aceite esencial de *P. amboinicus* encontrando que este tenía un gran poder reductor del radical DPPH y que además demostraron que el uso del aceite esencial en el tratamiento de cáncer de pulmón reduce las especies oxidantes que se generan por la enfermedad.

Algunos de los compuestos reportados en este trabajo, identificados por CG-MS son el carvacrol y el eugenol. α -cariofileno, β -cariofileno y *p*-cimeno los cuales han demostrado poseen propiedades antioxidantes en plantas como *L. graveolens* (García *et al.*, 2010).

Conclusiones

El aceite esencial 1 de *P. amboinicus* obtenido en de la parte aérea en la época de secas, tuvo un mayor rendimiento que los aceites 2 y 3 obtenidos en la época de lluvias.

El extracto hexánico de *P. amboinicus* en la CG-MS mostró presencia de ácidos grasos e hidrocarburos principalmente.

Las condiciones de cultivo de *P. amboinicus* influyen en la abundancia y tipo de compuestos obtenidos, siendo la época de secas la ideal para la obtención de aceites esenciales con mayor rendimiento y la temporada de lluvias la mejor para la diversidad compuestos químicos.

Los tres extractos obtenidos con solventes orgánicos: hexano, metanol y diclorometano absorbieron en la región de la luz UV. Los extractos de hexano y de diclorometano de *P. amboinicus*, fueron similares en la capacidad de absorción de la luz visible.

Los metabolitos secundarios fenólicos, glucósidos y terpenos identificados cualitativamente se encontraron mayormente en el extracto metanólico.

Todos los extractos polares, la partición hexánica y los aceites esenciales dieron positivo a terpenos.

Todos los extractos polares, la partición hexánica y los aceites esenciales tienen capacidad antioxidante.

A pesar que *P. amboinicus* y *L. graveolens* comparten características aromáticas, no tienen los mismos compuestos antioxidantes.

Literatura citada

Álvarez, F. E., 1995, Consecuencias del estrés oxidativo de la piel por radiaciones ultravioleta, *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 14(1).

American Cancer Society, 2015, <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel-tipo-melanoma/acerca/que-es-melanoma.html>, activo Febrero 2018

Avello, M. y Suwalasky, M., 2006, Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección, *Atenea*, 494: 161-172.

Bandeira, J.M., Barbosa, F. F., Barbosa, L. M. P., Rodrigues, I. C. S., Bacarin, M. A., Peters, J. A. y Braga, E.J.B., 2011, Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*, *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(2): 157-164.

Carneiro, B. F., Júnior, D. I., Lopes, Q. P. y Macêdo, O. R., 2010, Variação da quantidade de β -cariofileno em óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., Lamiaceae, sob diferentes condições de cultivo, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(4): 600-606.

Castañeda, C. B., Ramos, LL. E., e Ibáñez, V. L., 2008, Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico*, 8(1): 56-72.

Céspedes, M. L., Rodríguez C. K., Llópiz J. N. y Cruz M. N., 2000, un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento, *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 19(3): 186-190.

Chu, A.C. and Edelson, R. L., 1999, Malignant tumors of the skin, Oxford University Press, London, 446 pp.

Dos Santos, O. N., Mariane, B., Henrique, G. L. J., Sartorelli, P., Rosa, W., Soares, M G., Da Silva, A. M., Lorenzi, H., Vallim, A. M., and Pascon, C. R., 2015, Assessing the chemical

composition and antimicrobial activity of essential oils from brazilian plants—*Eremanthus erythropappus* (Asteraceae), *Plectranthus barbatus*, and *P. amboinicus* (Lamiaceae), *Molecules*, 20(5): 8440-8452.

Silverstein, M. R., Bassler, G. C. y Morrill C. T., 1981, Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos, *John & Sons, Inc, New York, USA*, 243-267 pp.

Domínguez S. X. A., 1984, Fundamentos y problemas de química orgánica. 5ª. Edición, *Limusa*, México, 203 p.

Flores de L. y Ramírez de D., 1995, Química orgánica. *Esfinge*, México, 349 p.

Goldsmith, L. A., Katz, S. I., Gilchrest, B. A., Paller, A. S., Ieffell, D. J., Wolff, K., 2014, Fitzpatrick Dermatología en medicina general, *Editorial Medica Panamericana*, México, 1527 p.

García, S. J. D., García, J. T. E., Menéndez, C.R., y Buznego, R. M. T., 1996, Efecto antioxidante de los extractos fluidos y de flavonoides de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. (Orégano francés), *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1(2): 27-30.

García, L. C., Martínez, A. R., Ortega, J. L. S. y Castro, F. B., 2010, Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales, *Revista Química Viva*, 9(2): 86-96.

García-Bores, A. M., Espinosa-Gonzalez, A. M., Reyna-Campos, A., Cruz-Toscano, S., Benítez-Flores, J.C., Hernández-Delgado, C. T., Flores-Maya, S., Urzúa-Meza, M., Peñalosa-Castro, I., Céspedes-Acuña, C. L. y Ávila-Acevedo, J. G., 2017, *Lippia graveolens* photochemopreventive effect against UVB radiation-induced skin carcinogenesis, *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 167: 72–81.

González, G. M. C., Hernández, M. S, Kite, G. y Vázquez, M. M., 2007, Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK var. *berlandieri*

Schauer), *Fitotecnia*, 30(1): 43-49.

Gutiérrez, M. C. y Droguet, M., 2002, Identificación de compuestos volátiles por CG-MS, *Boletín Intexter*, 122: 35-41.

Gutiérrez, V. R. M., 2003, Cáncer de piel, *Revista Facultad de Medicina UNAM*, 46: (4), 166-171 pp.

Gurgel, A. P. A. D., Da Silva, J. G., Grangeiro, A. R. S., Oliveira, D. C., Lima, C. M.P., Da Silva A. C. P., Oliveira, R. A. G. and Souza, I. A., (2009), In vivo study of the anti-inflammatory and antitumor activities of leaves from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae), *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2): 361–363.

Harborne J. B. and Baxter H., 1993, Phytochemical dictionary a handbook of bioactive compounds from plants, *Taylor & Francis*, 755p.

InfoCancer: cáncer de piel de células basales y escamosas, 2015, <http://www.infocancer.org.mx/estructura-del-rgano-con96i0.html>, activo oct 2017

Jia-Ming, C., Chun-Ming, C., Le-Mei, H., Yuh-Shan, C. y Rey-Yuh, W., 2010, Potential use of *Plectranthus amboinicus* in the treatment of rheumatoid arthritis, *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 7(1): 115–120.

Kitson F. G., Larsen B. S. and McEwen C. N., 1996, Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide, *Academic Press*, New York, 3-17 pp.

Manjamalai, A. and Berlin, G., 2012, Volatile constituents and antioxidant property of essential oil from *Plectranthus amboinicus* (Lour.), *International Journal of Pharma and Bioscience*, 3 (4B): 445-458.

Mayor-Oxilia, R., 2010, Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante, *Revista del Instituto de Medicina Tropical*, 5(2): 23-29.

Manrique, R. E., 2003, Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis, *Revista Ecosistemas*, 12(1): 1-11.

Marcano D. y Hasegawa M., 2002, Fitoquímica orgánica. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Venezuela, 588 p.

Menéndez, C. R. A. y Pavón, G. V., 1999, *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng, *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 4(3): 110-115.

Montero, M. 1996, Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Revisión, *Anales de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 57(4): 278-2881.

Muñoz-Acevedo, A., Kouznetsov, V. V. y Stashenko, E. E., 2009, Composición y capacidad antioxidante in vitro de aceites esenciales ricos en timol, carvacrol, trans-anetol o estragol. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 41(3): 287-294.

Rodríguez, P. J. M., Menéndez, J. R. L. y Trujillo, Y. L., 2001, Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo, *Revista Cubana de Medicina Militar*, 30(1): 15-20.

Sánchez S. O., 1980, Flora del Valle de México, 6ª edición, *Herrero*, México, 520 p.

Senthilkumar, A. and Venkatesalu, V., 2010, Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng against *Anopheles stephensi*: a malarial vector mosquito, *Parasitology Research*, 107(5): 1275-1278.

Sordo, C. y Gutiérrez, C., 2013, Cáncer de piel y radiación solar: experiencia peruana en la prevención y detección temprana del cáncer de piel y melanoma, *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 30(1): 113-117.

Organización mundial de la salud (OMS), 2003, Los niños son quienes más sufren los efectos del agotamiento de la capa de ozono,

http://www.paho.org/bol/index.php?option=com_content&view=article&id=207&catid=667:notas-de-prensa. Activo Febrero 2018.

Oliveira, R. A., Sá, I. C. G., Duarte, L. P., Oliveira, F. F., 2011, Constituintes voláteis de *Mentha pulegium* e *Plectranthus amboinicus* (lour.) spreng, *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 2(13): 165-169.

Organización de las Naciones Unidas (ONU), 2014, Día mundial del cáncer, Desmintamos los mitos, <http://www.un.org/es/events/cancerday/>. Activo Febrero 2018.

Peredeo-Luna, H. A., Palou-García, E. y López-Malo, A., 2009, Aceites esenciales: métodos de extracción, *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3-1(2009): 24-32.

Yung-Jia, C., Tai-Hung, H., Chuan-Sung, C., Tsung-Chun, L., Ya-Wen, C., Wen-Huang, P. and Chiu-Yuan, C., 2012, Analgesic and anti-inflammatory activities of the aqueous extract from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. Both in vitro and in vivo, *Evidence-Based complementary and alternative medicine*, 2012: 11.

Yuan-Siao, C., Hui-Ming, Y., Jiun-Jie, S., Ting-Jen, R. C., Chung-Yi, W., Jim-Min, F. and Chi-Huey, W., 2014, Chemical constituents of *Plectranthus amboinicus* and synthetic analogs possessing anti-inflammatory activity, *Bioorganic & Medicinal chemistry*, 22(5): 1766-1772.

Zavaleta, J., Muñoz, A. M., Blanco, T., Alvarado-Ortiz, C. y Loja, B., 2005, Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos, *Horizonte Médico*, 5(2): 13.

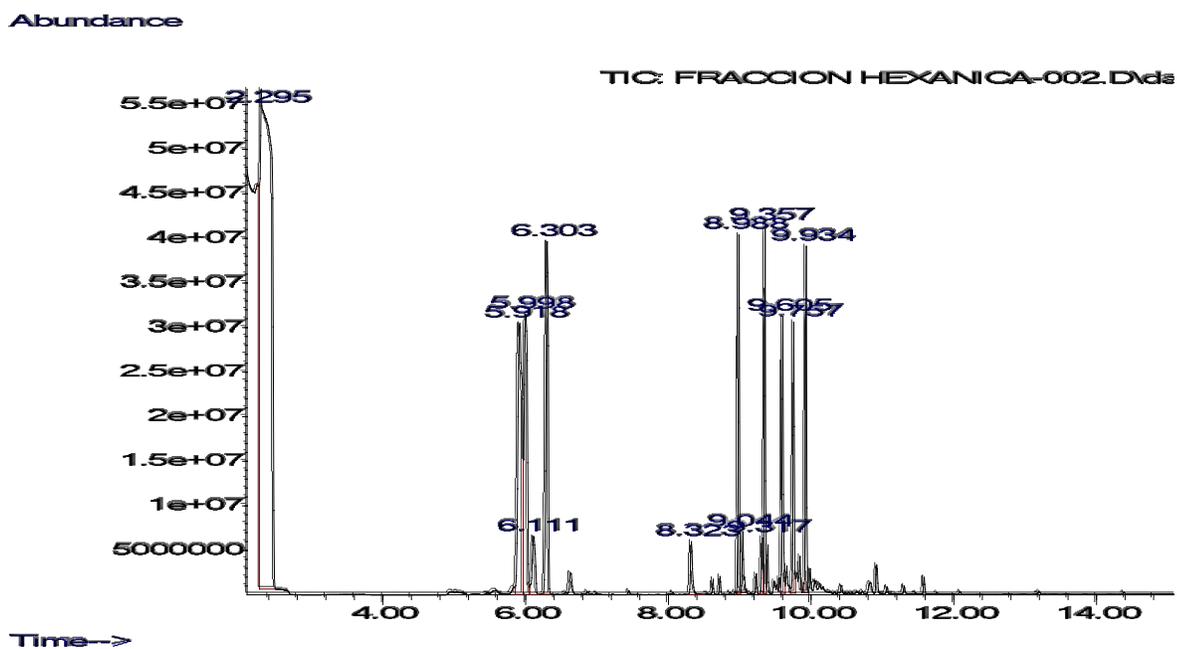


Figura 10: Cromatograma del aceite esencial 1 de *P. amboinicus*.

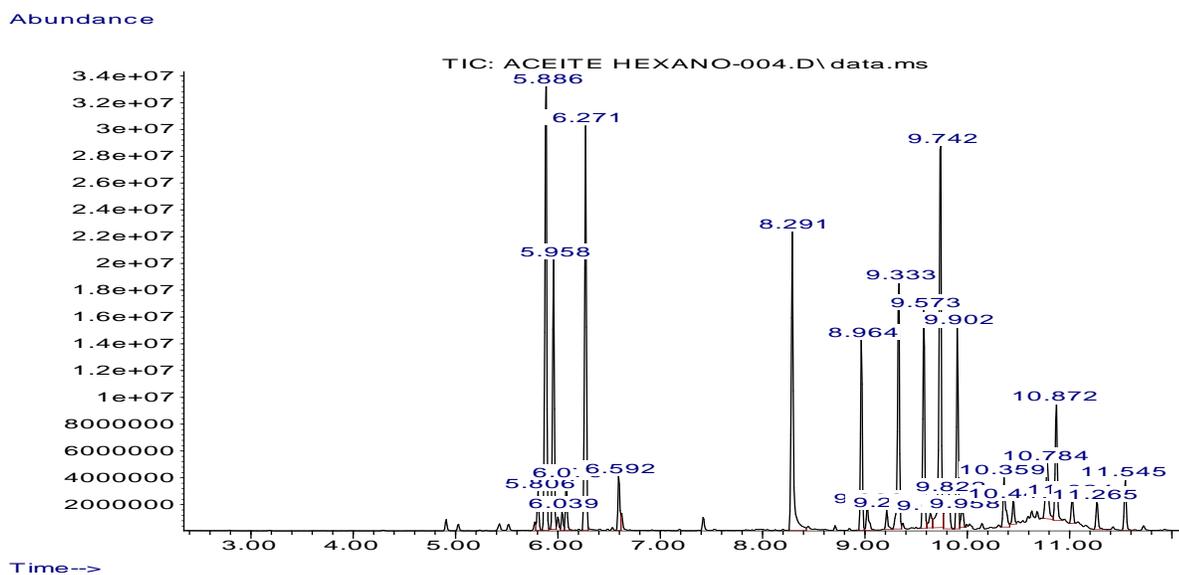


Figura 11: Cromatograma del aceite esencial 2 (hexano).

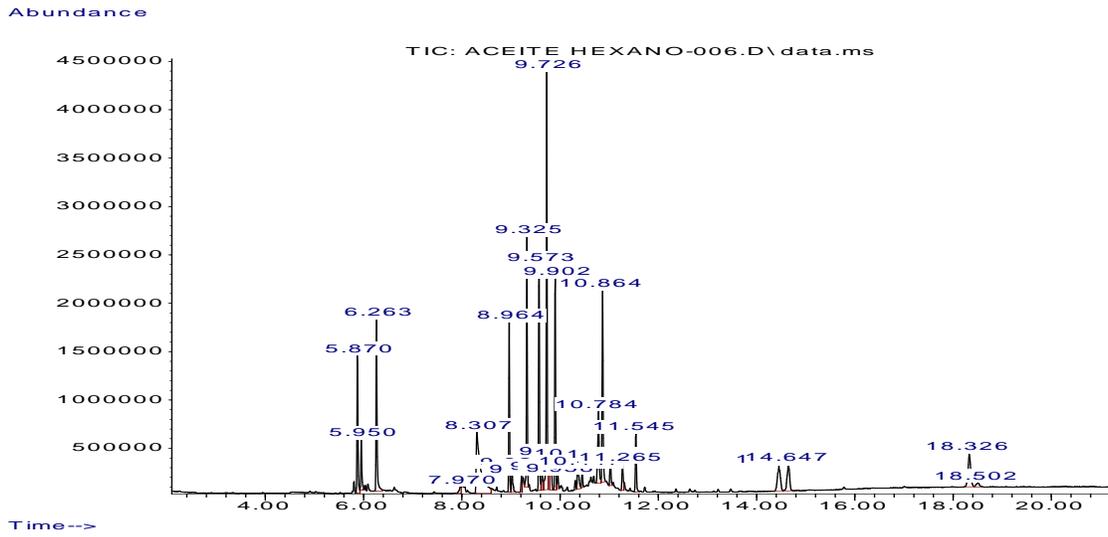


Figura 12: Cromatograma del aceite esencial 2 (acetona).

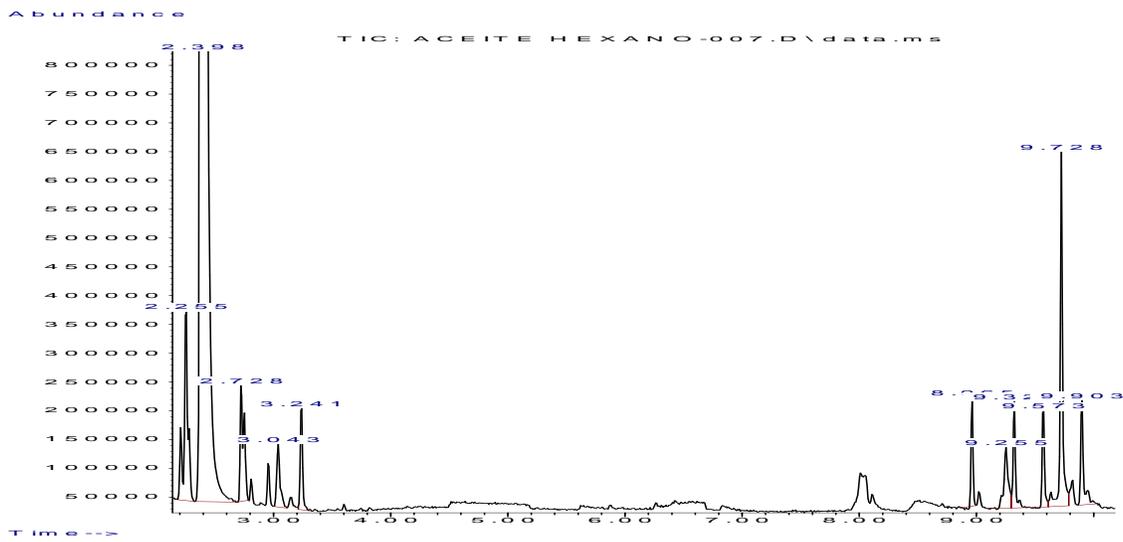


Figura 13: Cromatograma del aceite esencial 3 (acetona).

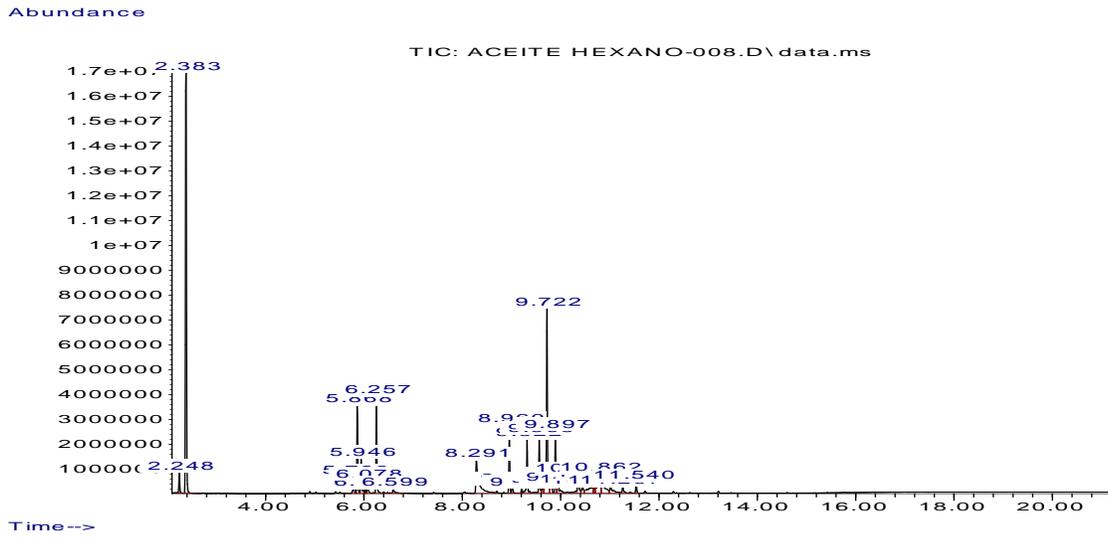


Figura 14: Cromatograma del aceite esencial 3 (hexano).