



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS  
FENÓLICOS Y TRITERPÉNICOS PENTACÍCLICOS EN SALVIAS  
MEXICANAS”**

***TESIS***

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**EDELÍ ISLAS GÓMEZ**



**MÉXICO, D.F.**

**2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Yolanda Caballero Arroyo

VOCAL: Profesor: Manuel Jiménez Estrada

SECRETARIO: Profesor: Arturo Navarro Ocaña

1er. SUPLENTE: Profesor: Bertha Julieta Sandoval Guillen

2° SUPLENTE: Profesor: Verónica Hernández Briones

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Laboratorio 321, Departamento de Alimentos y Biotecnología Conjunto E Facultad de Química

ASESOR DEL TEMA: Dr. Arturo Navarro Ocaña

---

SUPERVISOR TÉCNICO: Dr. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez

---

SUSTENTANTE: Edelí Islas Gómez

---

## Índice

Índice de tablas.....	i
Índice de figuras .....	iii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Planteamiento del problema.....	2
1.2 Objetivo general.....	2
1.2.1 Objetivos específicos.....	2
1.3 Hipótesis .....	3
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1 Especies.....	4
2.1.2 Historia.....	5
2.1.3 Clasificación .....	6
2.1.4 Usos .....	7
2.1.5 Composición en las especias .....	8
2.1.6.1 Compuestos flavorizantes .....	8
2.1.6.2 Compuestos picantes .....	8
2.1.6.3 Compuestos colorantes .....	9
2.1.6.4 Compuestos bioactivos.....	10
2.1.6.4.1 Actividad antimicrobiana.....	12
2.1.6.4.2 Actividad antioxidante .....	14
2.6 Salvias.....	15
2.6.1 Definición y distribución de la salvia.....	15
2.6.2 Descripción de la planta del género <i>Salvia</i> .....	17
2.6.3 Usos de las salvias en el mundo. ....	19
2.6.4 Principales actividades biológicas y farmacológicas de la salvia.....	22
2.6.5 Composición.....	25
2.6.5.1 Terpenoides .....	26
2.6.5.1.1 Triterpenoides .....	26
2.6.5.1.2 Diterpenos .....	28
2.6.5.2 Aceites esenciales.....	28
2.6.5.3 Compuestos fenólicos.....	29
2.6.5.3.1 Ácidos fenólicos .....	29
2.6.5.3.2 Flavonoides .....	30
2.7 Descripción y propiedades de los compuestos a estudiar. ....	31
2.7.1 Terpenoides .....	31

2.7.1.1	Clasificación de los triterpenos .....	31
2.7.1.2	Triterpenoides .....	32
2.3.1.2.1	Oleananos .....	33
2.3.1.2.2	Ursanos .....	33
2.7.2	Compuestos fenólicos.....	34
2.7.2.1	Clasificación.....	35
2.7.2.2	Ácidos cinámicos.....	35
2.7.2.3	Flavonoides .....	37
2.3.2.3.1	Flavonas.....	38
3.	METODOLOGÍA .....	40
3.1	Materiales y métodos .....	41
3.1.1	Materiales .....	41
3.1.2	Disolventes y reactivos .....	41
3.1.3	Equipos .....	41
3.1.4	Parte I. Preparación de las muestras .....	41
3.1.5	Parte II. Análisis cualitativo.....	42
3.1.5.1	En hojas de la <i>Salvia polystachya</i> utilizando cuatro diferentes disolventes .....	42
3.1.5.2	En hojas de las siete especies de salvia utilizando como disolvente el metanol-cloroformo (1:1).....	43
3.1.6	Parte III. Análisis cuantitativo .....	44
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	47
4.1	Parte I. Selección y preparación de la muestra .....	47
4.2	Parte II. Análisis cualitativo .....	48
4.2.1	Hojas de la <i>Salvia polystachya</i> con cuatro diferentes disolventes.....	48
4.2.2	Hojas de las siete especies de salvia con metanol-cloroformo (1:1).....	49
4.3	Parte III. Análisis cuantitativo .....	53
5.	CONCLUSIONES .....	63
6.	PERSPECTIVAS .....	64
7.	ANEXO.....	65
7.1	Pruebas de Múltiples Rangos para rendimientos de extracción.....	65
7.2	Curvas patrón para la cuantificación por HPLC .....	66
7.3	Cromatogramas.....	71
7.4	Pruebas de Múltiple Rangos para compuestos bioactivos .....	74
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	77

## Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación botánica de las especias	6
Tabla 2. Efectos directos y complejos de las especias	7
Tabla 3. Usos básicos de las especias	7
Tabla 4. Compuestos químicos contenidos en los aceites esenciales de las especias.	8
Tabla 5. Constituyentes picantes de diversas especias	9
Tabla 6. Componentes del color de las especias	10
Tabla 7. Ejemplos de compuestos bioactivos en especias de uso común.	11
Tabla 8. Especias usadas como saborizantes en alimentos que además poseen actividad antimicrobiana.	12
Tabla 9. Usos y propiedades biológicas de diversas especies de salvia	19
Tabla 10. Contenido de ácido oleanólico y ursólico en la <i>Salvia officinalis</i> y <i>Salvia lavandulifolia</i>	27
Tabla 11. Composición química (%) de los aceites esenciales de la <i>S. officinalis</i>	29
Tabla 12. Intervalo del contenido de ácidos fenólicos en diversas especies de salvia.	30
Tabla 13. Contenido de flavonoides en la <i>Salvia fruticosa</i>	31
Tabla 14. Clasificación de triterpenos	32
Tabla 15. Información de los triterpenoides ácido ursólico y oleanólico	34
Tabla 16. Clasificación de los compuestos fenólicos	35
Tabla 17. Información de los ácidos fenólicos	36
Tabla 18. Información de las flavonas apigenina y luteolina.	39
Tabla 19. Sistemas seleccionados para identificar cualitativamente los compuestos de la salvia mediante cromatografía en capa fina (CCF)	43
Tabla 20. Rendimientos de extracción en la <i>Salvia polystachya</i> usando distintos disolventes	48
Tabla 21. Presencia de los compuestos fenólicos y triterpenoides en los extractos de la <i>S. polystachya</i> mediante cromatografía en capa fina	49
Tabla 22. Rendimientos de extracción de las hojas y de los tallos en siete salvias usando metanol-cloroformo (1:1) como disolvente	53
Tabla 23. Tiempo de retención de los compuestos fenólicos (estándares)	54
Tabla 24. Contenido de los compuestos fenólicos en las especies de salvia estudiadas (mg/g de planta seca)	55

Tabla 25. Comparación entre los intervalos de concentración reportados y los obtenidos en las hojas y tallos de las salvias estudiadas (mg/g peso seco)	57
Tabla 26. Promedios entre tallos y hojas de las especies de salvia que se salieron de los rangos de concentración reportados (mg/g peso seco)	58
Tabla 27. Tiempo de retención de los compuestos triterpenicos (estándares)	59
Tabla 28. Contenido de compuestos triterpenicos en las especies de salvia estudiadas	60
Tabla 29. Promedio entre tallos y hojas de la <i>S. officinalis</i> , y comparación con los valores reportados de ácido oleanólico y ursólico de la <i>S. officinalis</i>	61
Tabla 30. Comparación entre los resultados obtenidos de las especies mexicanas y los intervalos reportados del contenido de ácido oleanólico y ursólico de varias especies de salvia	62
Tabla 31. Pruebas de Múltiple Rangos para rendimientos de extracción en la <i>S. polystachya</i> usando distintos disolventes	65
Tabla 32. Pruebas de Múltiple Rangos para los rendimientos de extracción de las hojas usando metanol-cloroformo (1:1) como disolvente	65
Tabla 33. Pruebas de Múltiple Rangos para rendimientos de extracción de los tallos de las salvias usando metanol-cloroformo (1:1) como disolvente	65
Tabla 34. Pruebas de Múltiple Rangos para el contenido de los compuestos fenólicos en las hojas de las salvias	74
Tabla 35. Pruebas de Múltiple Rangos para el contenido de los compuestos fenólicos en los tallos de las salvias	75
Tabla 36. Pruebas de Múltiple Rangos para el contenido de los compuestos triterpenicos en las hojas de las salvias	76
Tabla 37. Pruebas de Múltiple Rangos para el contenido de los compuestos triterpenicos en los tallos de las salvias	76

## Índice de figuras

Figura 1. Estructuras de compuestos con actividad antimicrobiana	13
Figura 2. Estructura de compuestos con actividad antioxidante	14
Figura 3. Estados mexicanos con mayor riqueza de salvias	16
Figura 4. Arbusto de la <i>Salvia officinalis</i>	17
Figura 5. Estructura química del ácido ursólico y oleanólico	27
Figura 6. Estructura química del abietano y pimarano	28
Figura 7. Estructura química de algunos terpenos de los aceites esenciales	29
Figura 8. Estructura química de algunos ácidos fenólicos	30
Figura 9. Estructura química de la luteolina y apigenina	31
Figura 10. Sistema numérico usado en esteroides	32
Figura 11. Estructura del escualeno	33
Figura 12. Esqueleto del oleanano y del ursano	33
Figura 13. Estructura del fenol	35
Figura 14. Estructuras del ácido cinámico y ácido 5-hidroxiferúlico.	36
Figura 15. Estructura básica de los flavonoides	37
Figura 16. Estructura del pirano, pirilium y pirona	38
Figura 17. Esqueleto de los isoflavonoides y de los neoflavonoides	38
Figura 18. Estructuras del camferol, quercetina y miricetina	38
Figura 19. Metodología: Diagrama general	40
Figura 20. Salvias seleccionadas	47
Figura 21. Cromatoplaqueta para identificar el ácido ursólico/oleanólico (AU/AO) en las especies de salvia	50
Figura 22. Cromatografía para identificar el $\alpha$ -amirina en las especies de salvia	51
Figura 23. Cromatografía para identificar ácido rosmarínico (AR) en las especies de salvia	51
Figura 24. Cromatografía para identificar al ácido ferúlico, cumárico, caféico y sinápico en las especies de salvias	52
Figura 25. Cromatogramas de los compuestos fenólicos de las hojas en las especies de salvias	71
Figura 26. Cromatogramas de los compuestos fenólicos de los tallos en las especies de salvias	72
Figura 27. Cromatogramas de los compuestos triterpenicos de los tallos y de las hojas en las especies de salvias	73

## 1. INTRODUCCIÓN

Las especias pueden contribuir de forma significativa a la variedad y la complejidad de la dieta humana. Las especias son consideradas alimentos funcionales, ya que además de aportar nutrientes contienen compuestos bioactivos; estos últimos ejercen efectos farmacológicos que modulan funciones terapéuticas en el cuerpo que resultan benéficas para la salud. Ancestralmente, las especias han gozado de una rica tradición de uso por sus características de mejora en el sabor y por sus propiedades medicinales. El interés por las plantas aromáticas y medicinales va creciendo en la academia, en las ciencias de la salud, y en la industria agrícola, química, alimentaria y farmacéutica.

Una de las especias que ha llamado la atención de científicos, por sus componentes biológicamente activos, es la *Salvia*; el término *Salvia* proviene del latín *salvare* que significa curar. Desde la antigüedad, esta especia ha sido usada en la medicina popular y con fines culinarios. La *Salvia* pertenece a la familia Labiatae, y cuenta con más de 900 especies que están distribuidas en varias regiones del mundo, como en el área Mediterránea, en Sudáfrica, en Centro y Sudamérica, y en el sureste de Asia. México es una de las áreas con mayor diversidad del género, contando con aproximadamente 300 especies; estas se presentan en zonas montañosas, principalmente en el centro y sur del país.

Los compuestos bioactivos que se han estudiado con mayor frecuencia en este género, son los que pertenecen a los ácidos fenólicos, triterpenoides y aceites esenciales. Entre las propiedades biológicas que poseen los compuestos de las salvias, se encuentra la actividad antimicrobiana, antiviral, renal, cardiovascular, antioxidante, antiinflamatoria, antimutagénica, hipoglucemiante y hepatoprotectora. La *Salvia officinalis*, la *Salvia lavandulifolia* y la *Salvia miltiorrhiza* son algunas de las especies más conocidas a nivel mundial. Mientras que la *Salvia hispánica*, la *Salvia lavanduloides*, la *Salvia fulgens* y la *Salvia mexicana* son algunas de las especies que son más populares en México.

A pesar de la sobresaliente diversidad de este género en México, son pocos los estudios que se han realizado a las salvias en el campo de los alimentos. Actualmente, en el país no se tiene tan difundido el conocimiento sobre las funciones de las especies mexicanas de salvia; aunque su uso se remonta al periodo Pre-Colombiano, donde tuvieron gran importancia como plantas comestibles, como condimento en alimentos, e incluso como medicina tradicional. Pero su uso se vio menguado durante la conquista española, al haber sido restringidas por el sentido religioso que estas poseían. Algunas de las especies mexicanas son conocidas por el nombre común de chía, como la *Salvia hispánica* y la *Salvia polystachya*.

Por la equivalencia que existe de los compuestos bioactivos entre las diferentes especies de salvia, se espera que las especies mexicanas de salvia presenten a varios de estos compuestos que han sido previamente determinados en otras especies. Por ello, se podría pensar en la aplicación de las especies mexicanas en la industria alimentaria del país.

### **1.1 Planteamiento del problema**

Conocer si las especies mexicanas de salvia presentan compuestos bioactivos equivalentes a la *Salvia officinalis*. Las salvias mexicanas seleccionadas para estudiar son la *Salvia amarissima*, *Salvia cardinalis*, *Salvia hispánica*, *Salvia mexicana*, *Salvia polystachya* y la *Salvia sp.*

### **1.2 Objetivo general**

Determinar el perfil de compuestos bioactivos fenólicos y triterpénicos pentacíclicos en las salvias mexicanas.

#### **1.2.1 Objetivos específicos**

1. Realizar una selección-recolección de las especies mexicanas de salvias.
2. Aplicar diferentes sistemas de elución en cromatografía en capa fina (CCF) para identificar cualitativamente el perfil de compuestos bioactivos fenólicos y triterpénicos pentacíclicos en los extractos de hojas de las especies salvias. Dentro de los compuestos fenólicos a identificar mediante CCF se

encuentran el ácido rosmarínico, caféico, cumárico y ferúlico; dentro de los compuestos triterpenoides se encuentran el ácido ursólico-oleanólico y la  $\alpha$ -amirina.

3. Determinar cuantitativamente por HPLC los compuestos bioactivos fenólicos y triterpénicos pentacíclicos en hojas y tallos de las especies de salvia. De los compuestos fenólicos a identificar y cuantificar mediante HPLC, se encuentran cuatro ácidos cinámicos: el ácido caféico, cumárico, ferúlico y sinápico; el ácido rosmarínico; y dos flavonas: la apigenina y luteolina. De los compuestos triterpenoides se determinará al ácido oleanólico y al ursólico.

### **1.3 Hipótesis**

La *Salvia officinalis* ha sido ampliamente usado como especia aromática debido a los compuestos químicos que aporta a los alimentos. Por lo tanto, si encontramos en las especies mexicanas compuestos equivalentes a los de la *Salvia officinalis*, también estas especies podrían ser aplicadas como especias aromáticas.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Especias**

Las especias pueden contribuir de forma significativa a la variedad y la complejidad de la dieta humana (Lampe et al, 2003). Ancestralmente, las especias han gozado de una rica tradición de uso por sus características de mejora en el sabor y por sus propiedades medicinales. El incremento en las enfermedades crónicas en todo el mundo y el aumento correspondiente en los costos de atención, están impulsando el interés de los investigadores y del público por los múltiples beneficios a la salud relacionados con estos alimentos, incluyendo la reducción en el riesgo de cáncer y la modificación en el comportamiento del tumor. Una creciente recopilación de evidencias epidemiológicas y preclínicas apunta a las especias como pequeños componentes de la dieta con múltiples características anticáncer (Kaefer y Milner, 2007).

#### **2.1.1 Definición**

La palabra *especia* procede del latín *species*, que significa frutos de la tierra. La definición de especia varía según los países o regiones del mundo; a veces se definen de acuerdo al lugar donde se cultiven, si están secas o húmedas o por su historia (es decir cuando comenzaron a usarse como tales). Algunas hierbas comestibles pertenecen a la categoría de especias. La palabra hierba procede de *Labit herba*, que quiere decir planta medicinal. Por lo tanto, el significado de especia procede de su uso culinario, no de una clasificación vegetal, una especia debe ser comestible. Ninguna de las definiciones de especia distingue claramente entre una especia y una hierba. En sentido amplio, el término especia puede definirse como un compuesto que tiene un fuerte flavor (aroma), actividad picante o colorante, que estimula el apetito o favorece la digestión. Las especias se obtienen de semillas, bayas, yemas, hojas, cortezas, raíces de plantas, que crecen principalmente en las zonas tropicales, subtropicales o templadas (Hirasa y Mitsuo, 2002). El concepto de especia puede resumirse de la forma siguiente:

1. Muchas plantas utilizadas como especias crecen en zonas tropicales, subtropicales o templadas.
2. No toda la planta, sino sólo parte de ella, es eficaz como especia.

3. El efecto de una especia está caracterizado más o menos por su flavor estimulante.

### **2.1.2 Historia**

Las especias han sido consideradas verdaderos tesoros desde la antigüedad. Muchas de las especias usadas en el mundo antiguo provenían del continente asiático; su transporte y comercialización hacia otras regiones dio origen a un próspero negocio para varios pueblos. Frecuentemente se utilizaron como moneda de cambio, incluso llegaron a ser más valiosas que el oro, fueron unos de los artículos más apreciados y caros de la época. La búsqueda de especias tropicales jugó parte importante de la historia mundial, ya que estimuló la exploración del continente americano, e inició la apertura de los países de oriente hacia la civilización y mercado de los países de occidente. A finales del siglo XVIII, se desarrollaron nuevas rutas comerciales, y la producción y los suministros de las especias aumentaron, lo cual las hizo más accesibles y comenzó, su uso más generalizado entre la población europea.

La mayoría de las especias no solo se empleaban para dar sabor a los alimentos sino que también se hacía uso de ellas en ceremonias religiosas, y sus aceites etéreos se destinaban para embalsamamientos de cadáveres; también fueron usadas con fines profilácticos (preventivos) y curativos para algunas enfermedades (Acero, 2006).

Los arqueólogos encontraron evidencia de que en 50 000 A.C., los humanos usaban las hojas de las plantas para condimentar la carne y que alrededor del 23 000 A.C. para elaborar vinos. Frecuentemente se atribuye la difusión y adopción de especias entre muchas culturas a las campañas de Alejandro el Grande en Asia Central alrededor del 330 A.C., ya que estas fueron las que introdujeron las culturas e ideas de Asia, Persia, India y Grecia. Registros antiguos indican que las especias fueron usadas como medicinales en el antiguo Egipto y en Asiria, y como conservadores de alimentos en la antigua Roma y en Grecia. Las especias continuaron usándose durante la Edad Media para condimentar, conservar alimentos, y/o con propósitos medicinales. Hoy en día, muchas cocinas étnicas son reconocidas por el uso de especias. Algunas de las especias que representan

la diversidad cultural son el tumérico en la cocina india; la albahaca, el ajo, y el orégano en la gastronomía italiana y greca; el jengibre, el cilantro, y el chile pimienta en la comida tailandesa (Kaefer y Milner, 2007).

### 2.1.3 Clasificación

La clasificación botánica de las especias se muestra en la tabla 1, en ella se incluyen las especias más comúnmente usadas en todo el mundo (Hirasa y Mitsuo, 2002).

Tabla 1. Clasificación botánica de las especias

Angiospermae		
Dicotyledoneae		
Sympetalae		
Tubiflorae	Boraginaceae	Borraja
	Labiatae	Menta, mejorana, lavanda, hisopo, albahaca, tomillo, perilla, salvia, orégano, romero, ajedrea
	Solanaceae	Guindilla, pimentón
Campanulatae	Pedaliaceae	Sésamo
	Compositae	Estragón, ajenjo, diente de león, endivia, achicoria, semilla de girasol
Rubiales	Rubiaceae	Gardenia
Archichlamydeae		
Piperales	Piperaceae	Pimienta
Urticales	Moraceae	Cáñamo (hachís), lúpulo
Polygonales	Polygonaceae	Pimienta de agua, acedera
Ranales	Myristicaceae	Nuez moscada, macis
	Lauraceae	Laurel, canela
	Magnoliaceae	Anís estrellado
Rhoedales	Cruciferae	Mostaza, rábano picante, berro
	Papaveraceae	Amapola
	Capparidaceae	Alcaparra
Rosales	Rosaceae	Serbal, almendra, sanguisorba
	Leguminosae	Alholva
Geraniales	Trapaealaceae	Capuchina
	Erythroxylaceae	Coca
Myrtiflorae	Rutaceae	Pimienta japonesa
Umbelliflorae	Myrtaceae	Pimienta de Jamaica, clavo
	Umbelliferae	Perejil, apio, eneldo, comino, anís, alcaravea, cilantro
Monocotyledoneae		
Glumiflorae	Gramineae	Lemongrass ( <i>Cymbopogon shoenantus</i> )
Liliiflorae	Liliaceae	Ajo, cebolla, puerro
	Iridaceae	Azafrán
Scitamineae	Zingiberaceae	Cardamomo, jengibre, cúrcuma
Orchidales	Orchidaceae	Vainilla

### 2.1.4 Usos

Las especias tienen diversos efectos. Cuando se incorporan a los alimentos imparten flavor, ocultan malos olores, inducen sensación picante y confieren colores característicos. Además de los efectos directos pueden conseguirse efectos complejos. Tales efectos incluyen la reducción de sal y azúcar, y la mejora de la textura de ciertos alimentos (tabla 2) (Hirasa y Mitsuo, 2002).

Tabla 2. Efectos directos y complejos de las especias

<i>Efecto directo</i>	<i>Efecto complejo</i>
Flavor (aroma y sabor)	Estimulante del apetito
Sabor (picante, amargo, dulce)	Enmascarante (olor)
Color (rojo, verde, amarillo)	Texturizante
Efecto antifúngico	Conservante
Efecto antibacteriano	
Efecto antioxidante	

Las principales funciones de las especias en la preparación culinaria pueden resumirse en cuatro categorías: flavorizante, desodorante, picante, y colorante. Cada especia realiza al menos una de estas funciones, y también pueden ejercer subfunciones, como se indica en la tabla 3 sobre algunas especias.

Tabla 3. Usos básicos de las especias

<i>Usos básicos</i>	<i>Especia (función principal)</i>	<i>Especia (subfunción)</i>
<b>Flavorizante</b>	Pimienta de Jamaica, canela, albahaca, eneldo, nuez moscada, hinojo, perejil, anís, anís estrellado, mejorana, comino, menta, cardamomo, macis, estragón, sésamo, vainilla, alholva, cardamomo, apio	Ajo, clavo, romero, cebolla, laurel, tomillo, salvia, cilantro, alcaravea, orégano, puerro, rábano, pimienta japonesa, azafrán, jengibre, mostaza
<b>Desodorante/ Enmascarante</b>	Ajo, clavo, romero, cebolla, laurel, tomillo, salvia, cilantro, alcaravea, orégano, puerro	Pimienta de Jamaica, canela, hinojo, perejil, anís estrellado, macis, comino, cardamomo, estragón, sésamo, vainilla, cardamomo, mostaza, rábano picante, pimienta japonesa, nuez moscada, jengibre
<b>Picante</b>	Pimienta, guindilla, mostaza, rábano picante, pimienta japonesa, jengibre	
<b>Colorante</b>	Cúrcuma, pimentón, azafrán	Guindilla

### 2.1.5 Composición en las especias

Las especias están constituidas por fibra, azúcar, proteína, ceniza, goma y otros compuestos. Entre estos últimos encontramos a los compuestos flavorizantes, picantes, colorantes y bioactivos.

#### 2.1.6.1 Compuestos flavorizantes

El aceite esencial volátil es el que imparte a la especia su aroma particular. Los aromas y sabores difieren sutilmente, dependiendo de las cantidades de aceite esencial y de las proporciones de los compuestos que contienen. Los principales compuestos químicos de los aceites esenciales de las especias son los terpenos, de los cuales los más abundantes o principales son los monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos (tabla 4). Tales terpenos están localizados en los tejidos y en células especiales; cuando se desintegran estos tejidos o células se produce un fuerte aroma al volatilizarse el aceite esencial (Hirasa y Mitsuo, 2002).

*Tabla 4. Compuestos químicos contenidos en los aceites esenciales de las especias.*

<i>Especia</i>	<i>Compuestos químicos del aceite esencial</i>
Ajo	Dialil disulfuro, dialil trisulfuro, alil propil disulfuro
Anís	Anetol, metil cavicol, aldehído de anís, limoneno
Canela	Cinamaldehído, eugenol, cariofileno, pineno
Clavo	Eugenol, cariofileno, acetil-eugenol
Jengibre	Gingibereno, felandreno, borneol, linalool, shogaol, gingeroeno
Laurel	Cineol, $\alpha$ -pineno, felandreno, eugenol, linalool, borneol
Nuez moscada/ macis	Miristisina, $\alpha$ -pineno, eugenol, geraniol, limoneno, terpineol
Orégano	Timol, carvacrol, $\alpha$ -pineno
Pimiento	Piperina, cariofileno, $\alpha$ -pineno, felandreno, canfeno, mirceno
Romero	Cineol, linalool, alcanfor, borneol, terpineol
Salvia	Cineol, linalool, alcanfor, borneol, $\alpha$ -pineno, tujona
Tomillo	Timol, carvacrol, linalool, $\alpha$ -pineno, borneol

#### 2.1.6.2 Compuestos picantes

Los grupos funcionales que contienen las especias y confieren características picantes, pueden clasificarse en cuatro grupos: amida, carbonilo, tioéter e isotiocianato (tabla 5). Las sensaciones picantes pueden dividirse en sensación <caliente> que se difunde sólo por la boca y sensación <acre> que estimula la membrana mucosa, tanto nasal como de la cavidad oral. Las especias que contienen los grupos funcionales amida o carbonilos producen la sensación

caliente y las que contienen compuestos tioéter o isotiocianatos son responsables de la sensación acre. La mayoría de los compuestos que inducen a la sensación acre son compuestos volátiles (fosas nasales), mientras que los responsables de la sensación caliente no suelen ser volátiles. Esto significa que la mayoría de los compuestos picantes acre de una especia son idénticos a sus componentes del flavor, pero que los compuestos picantes calientes normalmente son diferentes de los compuestos aromáticos del flavor (Hirasa y Mitsuo, 2002).

*Tabla 5. Constituyentes picantes de diversas especias.*

<i>Especia</i>	<i>Compuestos picante</i>	<i>Estructura básica</i>	<i>Sensación</i>
Guindilla	Capsaicina** Dihidrocapsaicina**	<b>Grupo amida</b> R-CO-N-R	Caliente ↓ Acre
Pimienta negra/blanca Pimienta japonesa	Piperina**, Chavicina** α- Sanshool** β- Sanchool**	R	
Jengibre Tade	Zingerol*, Shogaol* Poligodial* (Tadenal*)	<b>Grupo carbonilo</b> R-CO-R	
Cebolla Ajo	Dialil sulfuro* Dialil disulfuro*	<b>Grupo tioéter</b> R-S-R	
Mostaza Rábano Rábano picante	Alilisotiocianato*, P-hidroxibenzil Isotiocianato** Alil-isotiocianato* Butilcrononil Isotiocianato sulfuro*	<b>Grupo isotiocianato</b> R-N-C-S	

\*: volátil. \*\*: no volátil.

### 2.1.6.3 Compuestos colorantes

Un grupo importante de compuestos presentes en las especias se usan en el procesado de alimentos como colorantes naturales. Entre los colorantes de las especias figuran carotenoides, flavonoides y clorofilas (tabla 6) (Hirasa y Mitsuo, 2002).

Tabla 6. Componentes del color de las especias

<i>Compuesto</i>	<i>Color</i>	<i>Especia</i>
<b>Carotenoide</b>		
β- Caroteno	Rojizo-naranja	Guindilla, mostaza, pimentón, azafrán
Criptoxantina	Rojo	Pimentón, guiandilla
Luteína	Rojo oscuro	Pimentón, perejil
Zeaxantina	Amarillo	Pimentón
Capsantina	Rojo oscuro	Pimentón, guiandilla
Capsorbina	Rojo púrpura	Pimentón, guiandilla
Crocetina	Rojo oscuro	Azafrán
Neoxantina	Naranja-amarillo	Perejil
Violaxantina	Anaranjado	Perejil, pimienta dulce
<b>Crocina</b>	Amarillo-naranja	Azafrán
<b>Flavonoide</b>	Amarillo	Jengibre
<b>Curcumina</b>	Naranja-amarillo	Cúrcuma
<b>Clorofila</b>	Verde	Hierbas

#### 2.6.1.4 Compuestos bioactivos

Los alimentos funcionales se definen como los productos alimenticios de origen animal o vegetal, consumidos en la dieta diaria, que además de aportar nutrientes poseen compuestos bioactivos. Los compuestos bioactivos ejercen efectos farmacológicos que modulan funciones terapéuticas en el cuerpo que resultan benéficas para la salud (Drago et al., 2006). En las especias también se estudian los compuestos bioactivos, actualmente muchas de sus estructuras han sido identificadas, y se ha encontrado que las especias pueden cumplir funciones adicionales, ya que además de impartir sabor a los alimentos también prolongan la vida útil de estos por sus propiedades antimicrobianas, e incluso en ocasiones previenen la rancidez debido a sus propiedades antioxidantes (Acero, 2006). Las investigaciones, indican que los compuestos bioactivos de las especias pueden actuar solos o de forma conjunta (Kaefer y Milner, 2007). En la tabla 7 se muestran algunas especias con ejemplos de sus compuestos bioactivos.

Tabla 7. Ejemplos de compuestos bioactivos en especias de uso común.

Hierba/especia	Compuesto bioactivo
Albahaca	Eugenol, apigenina, limoneno, ácido ursólico, metil cinamato, 1,8-cineol, $\alpha$ -terpineno, antocianinas, $\beta$ -sitosterol, carvacrol, cintronello, ácido p-cumárico, quercetina, ácido rosmarínico, rutina, safrol, taninos
Alcaravea	Carvona, limoneno, $\alpha$ -pineno, camferol
Ajo	Alicina, dialil disulfido, alil isotiocianato
Azafrán	Crocetina, crocina, $\beta$ -caroteno, safranal, ácidos trans retinoicos
Canela	Aldehído cinámico, 2-hidroxicinamaldehído, eugenol
Cardamomo	Limoneno, ácido caféico
Clavo	Eugenol, isoeugenol, ácido gálico
Cebolla	Quercetina, dipropil disulfosidos
Cilantro	Quercetina, ácido caféico, cineol, geraniol, borneol, 1,8-cineol, $\alpha$ -terpineno, $\beta$ -caroteno, $\beta$ -pineno, $\beta$ -sitosterol, ácido cinámico, ácido ferúlico, $\gamma$ -terpineno, camferol, limoneno, mirceno, ácido p-cumárico, p-cimeno, rutina, ácido vainillínico
Comino	$\alpha$ -Pineno, $\beta$ -pineno, $\gamma$ -terpineno, p-cimeno, cuminaldehído, carvona, 1,8-cineol, $\beta$ -caroteno, $\beta$ -sitosterol, ácido caféico, carvacrol, geraniol, camferol, limoneno, ácido p-cumárico, quercetina, taninos, timol
Cúrcuma	Curcumina, curcuminoides
Eneldo	Carvona, limoneno, camferol, mircetina, quercetina, catequina
Hinojo	$\alpha$ -Pineno, $\beta$ -caroteno, limoneno, quercetina, ácido benzoico, $\beta$ -sitosterol, ácido caféico, ácido cinámico, ácido ferúlico, ácido fumárico, camferol, mircetina, 1,8-cineol, ácido p-cumárico, quercetina, rutina, ácido vainillínico, vainillina
Jengibre	Zingibereno, ingerol, paradol, curcumina
Lemongrass	Farnesol, geraniol
Mejorana	Eugenol, limoneno, ácido ursólico, 1,8-cineol, $\alpha$ -pineno, $\alpha$ -terpineno, carvacrol, farnesol, geraniol, p-cimeno, ácido rosmarínico, esteroides, timol, apigenina
Menta	Limoneno, mentol, eriodictiol, hesperitina, apigenina, luteolina
Mostaza	alil isotiocianato, $\beta$ -caroteno
Nuez moscada	Ácido caféico, catequina
Orégano	Apigenina, luteolina, mircetina, quercetina, ácido caféico, ácido p-cumárico, ácido rosmarínico, carvacrol, timol
Perejil	Apigenina, luteolina, camferol, mircetina, quercetina, ácido caféico
Pimienta de Jamaica	Eugenol
Pimienta negra	Piperidina, piperina, limoneno, $\alpha$ -pineno, $\beta$ -pineno
Romero	Carnasol, ácido carnósico, cineol, geraniol, $\alpha$ -pineno, $\beta$ -caroteno, apigenina, limoneno, narangina, luteolina, ácido caféico, ácido rosmarínico, rosmanol, ácido vainillínico
<b>Salvia</b>	$\alpha$ -pineno, $\beta$ -sitosterol, citral, farnesol, ácido ferúlico, ácido gálico, geraniol, limoneno, cineol, $\beta$ -caroteno, catequina, apigenina, luteolina, saponina, ácido ursólico, ácido carnósico, ácido vainillínico, ácido caféico, timol, eugenol, ácido rosmarínico.
Tomillo	Timol, carvacrol, cineol, $\alpha$ -pineno, apigenina, $\beta$ -caroteno, eugenol, limoneno, ácido ursólico, luteolina, ácido gálico, ácido caféico, ácido rosmarínico, ácido carnósico, hispidulina, cismaritina

#### **2.6.1.4.1 Actividad antimicrobiana**

Los microorganismos desempeñan importantes papeles de interés en diferentes áreas de la industria de los alimentos. Algunos se emplean ventajosamente en la elaboración de productos lácteos, salmueras de curado, encurtidos y en otros productos fermentados, pero en la mayoría de los casos alteran los alimentos deteriorándolos hasta hacerlos incomedibles. Existen diversos compuestos antimicrobianos presentes de forma natural en los alimentos e ingredientes de alimentos que pueden contribuir a ampliar la vida media de los alimentos, entre estos compuestos se incluyen ácidos orgánicos, pigmentos y aceites esenciales (Acero, 2006).

Las propiedades antimicrobianas de las especias se han conocido durante siglos. Por ejemplo, las especias en la antigua India y China se empleaban para conservar alimentos, así también con fines medicinales. En Grecia y Roma el cilantro se usó para prolongar el periodo de conservación de la carne y la menta se usaba para evitar la rápida alteración de la leche. Enfermedades infecciosas como el cólera y el tifus, prevalentes en el periodo medieval, se trataban con especias, probablemente por sus propiedades bactericidas y medicinales. Toda acción inhibidora frente al crecimiento microbiano generalmente se expresa como acción antimicrobiana, incluyendo sus efectos bacteriostáticos o fungistáticos (prevención del crecimiento microbiano y de su propagación), muchas de las especias poseen propiedades antimicrobianas y/o antifúngicas (Hirasa y Mitsuo, 2002).

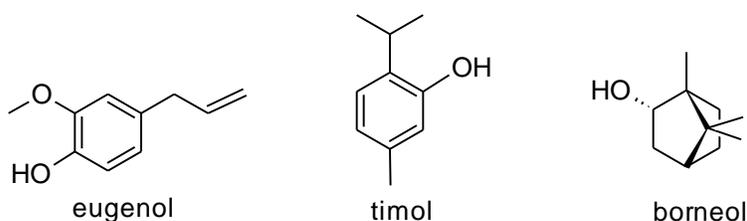
La investigación de las propiedades antimicrobianas de las especias comenzó en la década de 1880; y desde principios del siglo XX, la investigación de extractos de especias y de sus aceites esenciales, se viene realizando en tal sentido. En estudios recientes se ha comprobado que las especias ejercen un efecto inhibitor del crecimiento de bacterias que causan enfermedades transmitidas por alimentos incluyendo a *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Bacillus cereus*. Se señala, así, el potencial que posee este tipo de compuestos para ser empleados como una barrera adicional para controlar los microorganismos, dentro de las diversas tecnologías disponibles para la

conservación de los alimentos (Acero, 2006). Algunas de las especias que contienen altos niveles de compuestos antimicrobianos con uso potencial en alimentos son el clavo, el ajo, la cebolla, la salvia, el romero, el cilantro, el perejil, el orégano, la mostaza y la vainilla (tabla 8) (Rodríguez, 2011).

*Tabla 8. Especies usadas como saborizantes en alimentos que además poseen actividad antimicrobiana.*

Ajo	Comino	Nuez Moscada
Albahaca	Cúrcuma	Orégano
Alcaravea	Eneldo	Perejil
Anís	Estragón	Pimienta
Azafrán	Hinojo	Pimienta de Jamaica
Canela	Jengibre	Romero
Cardamomo	Laurel	Salvia
Cebolla	Mejorana	Tomillo
Cilantro	Menta	Vainilla
Clavo	Mostaza	

Los compuestos químicos que tienden a poseer una fuerte actividad antimicrobiana poseen un grupo hidroxilo (-OH) o un grupo aldehído (-CHO). El grupo hidroxilo puede formar enlaces de hidrógeno con el sitio activo de una enzima, ocasionando su desactivación. La inhibición del crecimiento por el grupo aldehído se considera que puede deberse en parte a su reacción con grupos sulfhídrido que son necesarios para el crecimiento microbiano. Ejemplos de los alcoholes y aldehídos de terpenos volátiles con actividad antibacteriana son: el eugenol (compuesto mayoritario del clavo y de la pimienta de Jamaica, y compuesto secundario en la canela), el timol (compuesto mayoritario del tomillo y del romero), borneol (de la salvia y romero), carvacrol, isoborneol (presente en el tomillo), vainillina y aldehído salicílico (figura 1) (Hirasa y Mitsuo, 2002).



*Figura 1. Estructuras de compuestos con actividad antimicrobiana*

#### 2.6.1.4.2 Actividad antioxidante

Los alimentos se estropean gradualmente por diversas razones durante el almacenamiento, una de ellas por oxidación del aceite o grasa que contienen los alimentos. El uso de antioxidantes puede prolongar la vida útil de muchas clases de alimentos y permite la posibilidad mercantil de desarrollar nuevos productos alimentarios. La mayoría de los alimentos contienen cierta cantidad de grasa. Las grasas reaccionan con el oxígeno del aire generando peróxidos, que son posteriormente oxidados y descompuestos a alcoholes y aldehídos de bajo peso molecular, produciendo rancidez. Estudios sobre las propiedades antioxidantes de diversas especias efectuados en la década de 1930 mostraron que algunas especias retardaban la generación de peróxidos en el aceite de cacahuete e impedían el enranciamiento de la carne. Además de las propiedades antioxidantes de cada especia individual, se ha confirmado que existen efectos sinérgicos en las combinaciones especia-especia y especia-antioxidante. Las actividades antioxidantes de las especias, son potenciadas sinérgicamente cuando se usan con tocoferol o ascorbato sódico. Los estudios realizados durante muchos años han confirmado las propiedades antioxidantes de ciertas especias. Las investigaciones más recientes se han centrado en el aislamiento e identificación de las sustancias responsables. Ejemplos de los compuestos antioxidantes que han sido aislados en el romero son el carnosol, rosmanol, isorrosmanol y el epirosmanol; en el orégano son el ácido protocatecuico y el ácido caféico; en el sésamo son el sesamol y el sesaminol; en la cúrcuma son la curcumina, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido protocatecuico, y el ácido vainíllinico (figura 2) (Hirasa y Mitsuo, 2002).

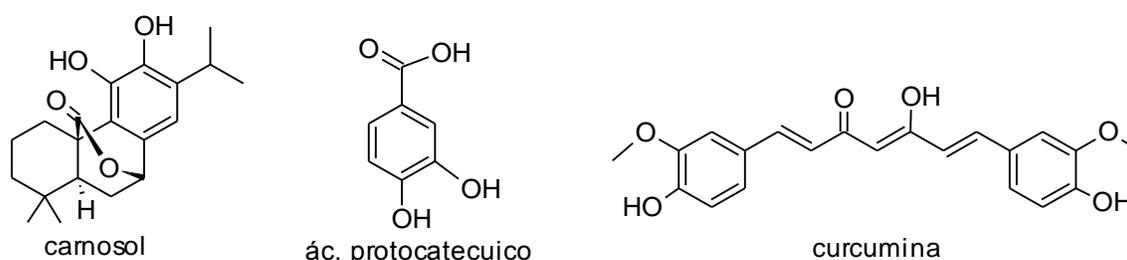


Figura 2. Estructura de compuestos con actividad antioxidante

## 2.6 Salvias

Hay un creciente interés en la industria, en la academia y en las ciencias de la salud por las plantas aromáticas y medicinales. Muchas industrias están involucradas, tales como la silvicultura, agricultura, química, alimentaria, farmacéutica, cosmética, de sabores y de aromas. Las raíces, rizomas, bulbos, hojas, tallos, madera, flores, frutos y semillas de las plantas se usan como materia prima; y a partir de éstas se producen gomas, resinas, aceites esenciales, ceras, jugos, extractos y especias para propósitos aromáticos y medicinales. Todos estos productos son comercializados a nivel mundial (Kintzios, 2000).

Las especies de salvia están entre las especias aromáticas más importantes usadas en el mundo, se encuentran ampliamente propagadas y algunos de sus compuestos poseen propiedades biológicas; por ello podría mejorarse su producción para la posterior comercialización de sus productos.

### 2.6.1 Definición y distribución de la salvia.

El nombre *Salvia* proviene del latín “*salvare*”, que significa curar (Topçu, 2006). La *Salvia* pertenece a la familia Lamiaceae (Labiatae), la cual cuenta con 200 géneros y 3000 especies. La *Salvia* es uno de los géneros más grandes de esta familia, y es representada por más de 900 especies que están ampliamente distribuidas en varias regiones del mundo, como en el área Mediterránea, Sudáfrica, Centro y Sudamérica, y el Sureste de Asia (Manjarréz et al., 2003). México es considerado como una de las áreas con mayor diversidad del género en el mundo, con aproximadamente 300 especies, que en un porcentaje importante (85-88%) son endémicas (Ramamoorthy, 1984; Dieringer et al., 1991; Ramamoorthy y Elliott, 1998). Villaseñor (2004) indica que *Salvia* es el segundo género más diverso en la República Mexicana. De acuerdo con la clasificación de Bentham (1876), el género *Salvia* se divide en 4 subgéneros: *Calosphace*, *Leonia*, *Salvia* y *Sclarea*. Las especies mexicanas de *Salvia* se incluyen dentro del subgénero *Calosphace*, con excepción de 3, distribuidas en el NE de México del subgénero *Leonia* y de 12 bajacalifornianas que pertenecen a la sección *Audibertia* (Epling, 1938, 1939; Walker y Elisens, 2001; Walker et al., 2004). La mayor diversidad de especies del género *Salvia* se presenta en las zonas

montañosas de México, principalmente en las del centro-sur del país (Espejo y Ramamoorthy, 1993). En consecuencia, los bosques templados y en particular los de coníferas y encinares, son los tipos de vegetación que albergan la mayor proporción de especies de *Salvia* (Ramamoorthy y Lorence, 1987). No obstante, también se encuentran en los bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios, zonas áridas y desérticas (Dávila et al., 1993; Fernández et al., 1998; Ramamoorthy y Elliot, 1998). A pesar de la sobresaliente diversidad de *Salvia*, son pocos los estudios que ofrecen información monográfica actualizada de sus especies. En un trabajo del año 1998, Ramamoorthy y Elliot indican que los estados mexicanos con mayor riqueza de salvias son Oaxaca (63 especies), Guerrero (51), Puebla (50), Jalisco (49) y Michoacán (48), figura 3. Otras publicaciones enlistan un mayor número de especies para el estado de Michoacán, particularmente Rodríguez y Espinosa (1996) que registraron 72 especies y Carranza (2005), quien estima que existen 75. Además, *Salvia* es un género con gran potencial ornamental (Sutton, 1999) que ha sido explotado principalmente en otros países y poco reconocido en México. Las especies de *Salvia* que comúnmente se cultivan en Michoacán son la chía, *S. hispanica* L., (Cahill, 2003) y los mirtos, *S. leucantha* y *S. microphylla* Kunth. Estas especies se utilizan principalmente como plantas comestibles, medicinales y de ornato, pero otras especies que pueden cultivarse por sus vistosas flores son *S. clinopodioides* Kunth, *S. fulgens* Cav., *S. patens* Cav. o *S. sessei* Benth. (Cornejo e Ibarra, 2011).

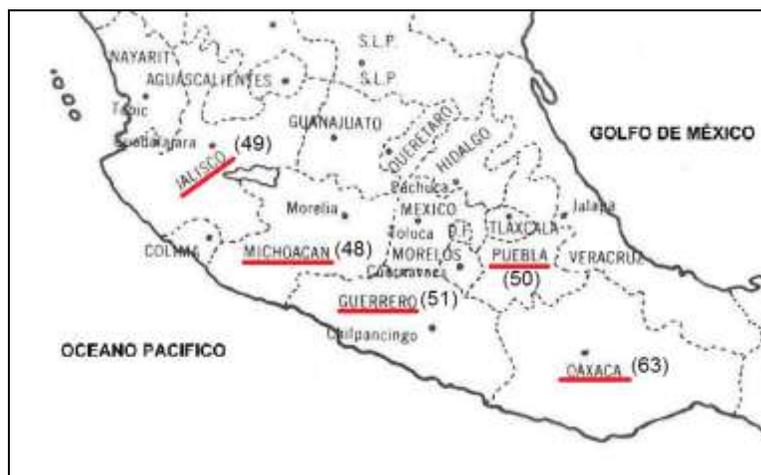


Figura 3. Estados mexicanos con mayor riqueza de salvias (Jalisco, Michoacán, Guerrero, Puebla, Oaxaca)

### 2.6.2 Descripción de la planta del género *Salvia*

Las especies de salvia son arbustos perennes. Sus tallos son largos, angulares y erectos, alcanzan alturas de 50 a 100 cm, dependiendo de la especie y las condiciones ambientales. Un número de ramas (usualmente de 3 a 5) son producidas a partir de brotes laterales del tallo principal. Las hojas son opuestas, simples, ovaladas, y pecioladas. La inflorescencia es una verticilada terminal que consiste de 4 a 10 flores violetas, azules, lilas o azules-pálido (figura 4). Todas las partes aéreas están cubiertas por pelos glandulares que imparten un color plateado a plantas maduras. La floración comienza desde marzo a junio, dependiendo las condiciones climáticas, y dura alrededor de un mes. Las plantas tienden a crecer de nuevo con facilidad después de cortar, tanto en altura como en ramificación, especialmente después del segundo año de la siembra. Hay evidencia de que los cultivos de salvia pueden ser productivos por más de 10 años cuando se cultivan en un medio ambiente adecuado y bajo la apropiada agricultura (Kintzios, 2000).



Figura 4. Arbusto de la *Salvia officinalis* (Garbolino, 1998).

#### *Adaptación*

Todas las especies de salvia pueden crecer desde el nivel del mar hasta altitudes de 1500 m. Por lo tanto, sus hábitats favorables se encuentran en la mayoría de las subdivisiones del clima del mediterráneo, mientras que se produce considerable daño por heladas en condiciones climáticas más severas. Tanto el forraje como los rendimientos de aceite se reducen en ambientes fríos y sombreados, los cuales inducen a una reducción en el tamaño de la planta y la

densidad de los pelos peltados. En general, la concentración del aceite esencial tiende a ser más alta en las regiones más cálidas y secas. También se ha encontrado que la composición química del aceite depende de las condiciones ambientales. Aparte de los suelos extremadamente gruesos o de textura fina, las especies de salvia pueden ser cultivadas en un amplio rango de tipos de suelo, especialmente en suelos calcáreos de textura media, bien drenados con un pH de alrededor de 6.5 (Kintzios, 2000).

#### *Propagación de la planta*

Las especies de salvia pueden propagarse tanto sexualmente como asexualmente:

- Propagación sexual. La producción de semillas por parte de las plantas de salvia es abundante. Las semillas son esféricas, de un tamaño razonable (1000 semillas pesan entre 6 y 7g) en comparación con otras especies de Lamiaceae. Las temperaturas óptimas para la germinación de las semillas están entre 10 y 30 ° C.
- Propagación asexual. Las plantas de salvia se propagan asexualmente por medio de esquejes, tallos secundarios, y cultivo de tejidos.

#### *Poscosecha*

La biomasa cosechada se seca al aire en la sombra. La exposición directa del sol tiene que ser evitada para prevenir la evaporación de compuestos volátiles del aceite esencial. En el almacenamiento del material de la planta seca en la oscuridad por alrededor de dos años, se encontró una reducción de la concentración de aceite esencial de 15 al 25%. Las bajas temperaturas durante el almacenamiento (-2 y -18°C) no ofrecieron alguna ventaja en comparación con las temperaturas normales (20 °C). El empaque también afecta a la calidad del producto. Un examen de las películas usadas para el envase de los tejidos secos de salvias ha demostrado que cuando se aumenta el espesor de la película se reduce la permeabilidad de las sustancias volátiles manteniendo así la calidad del material vegetal durante más tiempo. Para un espesor dado, el polipropileno es menos permeable que el polietileno. Otras características de las películas que

también pueden ser importantes son la resistencia mecánica, propiedades de termosellado, penetración de los rayos UV y la luz (Kintzios, 2000).

### 2.6.3 Usos de las salvias en el mundo.

Las salvias han sido usadas desde la antigüedad como especias aromáticas en diversas comidas y bebidas, también se han usado en la medicina tradicional para curar más de sesenta diferentes enfermedades, entre las que figuran los resfriados, la bronquitis, la tuberculosis, las hemorragias, y los desordenes menstruales. Entre las propiedades biológicas de este género se incluyen la actividad antimicrobiana, antiviral, cardiovascular, renal, antioxidante, antiinflamatoria, antimutagénica, antiespasmódica, hipoglucemiante y hepatoprotectora. En seguida se muestran en la tabla 9 algunos de los usos y de las propiedades biológicas de distintas especies de salvia distribuidas en el mundo.

Tabla 9. Usos y propiedades biológicas de diversas especies de salvia

<i>Especie de salvia</i>	<i>Usos</i>	<i>Propiedades biológicas</i>	<i>Ubicación</i>	<i>Referencias</i>
<p><i>S. officinalis</i></p> 	<p>Cosméticos Industria alimentaria (condimento). Aromatizante y astringente: comidas y bebidas. Droga oficial "Herba Salvia".</p>	<p>Antiséptica Antioxidante Antiinflamatoria Antiespasmódica Hipoglucemiante</p>	<p>Mediterráneo</p>	<p>(Middleton, 1990; Wang et al, 2003; Topçu, 2006)</p>
<p><i>S. sclarea</i></p> 	<p>Té Cosméticos Aromaterapia Vino sabor moscatel Sudores nocturnos Dolor estomago, garganta y cabeza</p>	<p>Antiséptica Astringente Antiespasmódica</p>	<p>Mediterráneo Centro de Asia</p>	<p>(Middleton, 1990, Kuźma et al, 2005; Topçu, 2006)</p>
<p><i>S. lavandulifolia</i></p> 	<p>Medicina tradicional: Menopausia Sudoración</p>	<p>Espasmolítica Hipoglucemiante Anticolinesterasa</p>	<p>Sur de Italia Mediterráneo Islas canarias Norte de África</p>	<p>(Middleton, 1990; Herraiz et al, 2010)</p>

<p><i>S. fruticosa</i></p> 	<p>Tos, digestión, resfriados Nerviosismo Dolor garganta Dolencias cardíacas Úlceras en la boca Disminuir presión arterial Disminuir azúcar en sangre</p>	<p>Antiséptica Antioxidante Antiinflamatoria</p>	<p>Este del Mediterráneo Sur de Italia Islas canarias Norte de África</p>	<p>(Topçu, 2006) (Psaroudakis y Sorensen, 1994)</p>
<p><i>S. dichroantha</i></p> 	<p>Té Medicina tradicional: Resfriado Bronquitis Dolor de cabeza Dolor estomago Menstruación (desordenes)</p>	<p>Antioxidante</p>	<p>Irán Turquía</p>	<p>(Topçu, 2006; Les senteurs du Quercy)</p>
<p><i>S. aucheri</i></p> 	<p>Infusión</p>	<p>Tónica Diurética Antiséptica Astringente Hemostática Carminativa Espasmolítica</p>	<p>Turquía</p>	<p>(Middleton, 1990; Figueredo et al, 2012)</p>
<p><i>S. miltiorrhiza</i></p> 	<p>Farmacopea China Extracto de raíz "Danshen" Enfermedades del corazón y del hígado.</p>	<p>Antioxidante Antiinflamatoria</p>	<p>China Japón</p>	<p>(Lu y Foo, 2002; Topçu, 2006; Ah et al, 2008; Chen et al, 2009; Perhill Nurseries)</p>
<p><i>S. hypoleuca</i></p> 	<p>Medicina popular Especia aromática</p>	<p>Tónica Carminativa Antirreumática Antimicrobiano</p>	<p>Irán Turquía Afganistán</p>	<p>(Hoskovec y Rejzek, 1997; Gohari et al, 2010)</p>
<p><i>S. stenophylla</i></p> 	<p>Cocina Fiebre Aromaterapia Desordenes digestivos</p>	<p>Antioxidante Antimicrobiana Antiinflamatoria</p>	<p>Sur de África</p>	<p>(Yoji's Salvia Garden, 2000; Topçu, 2006)</p>
<p><i>S. repens</i></p> 	<p>Diarrea Dolor de estomago</p>	<p>Antimicrobiana Antiinflamatoria</p>	<p>Sur de África</p>	<p>(Topçu, 2006; Société Française d'Ethnopharmacologie, 2010)</p>

<p><i>S. africana-lutea</i></p> 	<p>Té Tos Cocina Resfriados Bronquitis Patologías femeninas</p>	<p>Antioxidante Antiinflamatoria</p>	<p>Sur de África</p>	<p>(Kamatou et al, 2010; PlantZAfrica)</p>
<p><i>S. amarissima</i></p> 	<p>-----</p>	<p>Antiulcerosa Antihelmíntica Hipoglucemiante</p>	<p>México Guatemala</p>	<p>(López et al, 2010; foto propia)</p>
<p><i>S. elegans</i></p> 	<p>Té Medicina tradicional: Golpes Insomnio Ansiedad Dolores después de parto Dolor de cabeza y de estomago</p>	<p>Ansiolítica Antidepresiva</p>	<p>México</p>	<p>(Middleton, 1990; Jiménez et al, 2010)</p>
<p><i>S. hispánica</i></p> 	<p>Bebidas Medicina tradicional: Dolor muscular Reducción de tumores Enfermedades cardiovasculares</p>	<p>Antioxidante</p>	<p>Centro América Sur de México</p>	<p>(Middleton, 1990; Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009)</p>
<p><i>S. cardinalis</i></p> 	<p>Somnífero</p>	<p>-----</p>	<p>México: Puebla</p>	<p>(Middleton, 1990)</p>
<p><i>S. mexicana</i></p> 	<p>Forraje Bebidas Apicultura</p>	<p>Antioxidante Antiinflamatoria</p>	<p>México: Sinaloa De Chihuahua a Veracruz Oaxaca</p>	<p>(Topçu, 2006; foto propia)</p>
<p><i>S. lavanduloides</i></p> 	<p>Tos Diarrea Heridas Vesícula Contra vómito Dolor estomago y de muelas</p>	<p>Antipirética Expectorante Hemostática Antidisentérica</p>	<p>Centro América México: Morelos Michoacán Chiapas</p>	<p>(Middleton, 1990; Ortega et al, 1991)</p>
<p><i>S. polystachya</i></p> 	<p>En bebidas y comidas. Medicina tradicional: Dolor estomago y de cabeza. Ornamental</p>	<p>Purgante Emoliente Antipirética Antipalúdica Antihemorrágica</p>	<p>México: Chiapas, Colima, Distrito Federal, Veracruz, etc.</p>	<p>(Middleton, 1990; Ortega et al, 2006; CONABIO, 2012)</p>

#### **2.6.4 Principales actividades biológicas y farmacológicas de la salvia.**

La salvia ha sido utilizada como una especia con propiedades curativas benéficas durante milenios. Un proverbio nos asegura, que un hombre que tiene salvia en su jardín no necesita de doctor. Dentro del género *Salvia* existe una amplia variedad de especies que a su vez muestran diferentes propiedades biológicas, en seguida se describen algunas de ellas.

##### *Actividades bioantioxidantes, antiinflamatorias y para prevenir la tumorigénesis*

En la última década, la importancia de radicales libres en la etiología de la enfermedad ha sido cada vez más reconocida y ha llevado al desarrollo de nuevos enfoques en la evaluación bioquímica de eventos asociados con la mutagénesis, tumorigénesis, y/o la promoción de cáncer. Los radicales libres son generados por las vías metabólicas en el cuerpo, o también pueden ser causados por la transformación de específicas moléculas xenobióticas y por contaminantes ecológicos. Los suministros dietéticos de antioxidantes naturales actúan como agentes protectores contra estos radicales libres y pueden, en cantidades suficientes, actuar como eliminadores eficaces de radicales libres antes de que se produzca cualquier daño a los tejidos.

Las hojas de salvia (*S. officinalis* L.) son bien conocidas por su capacidad antioxidante basada en su estructura fenólica. Los extractos de salvia que están disponibles en el mercado son utilizados principalmente por la industria del procesamiento de los alimentos, pero también podrían ser aplicados en la salud humana. Los principales diterpenos fenólicos de la salvia, que muestran alta actividad antioxidante son el ácido carnósico, el carnosol y el rosmanol. El ácido rosmarínico también es responsable de la actividad antioxidante de la salvia.

Algunos antioxidantes naturales como el carnosol exhibieron efectos antiinflamatorios e inhibitorios con respecto a las actividades de iniciación de tumores en sistemas de pruebas con ratones. Además, algunos compuestos de las salvias como el ácido ursólico y oleanólico pueden resultar prometedores en la investigación de la inflamación y de la prevención de cáncer (Kintzios, 2000).

### *Actividad antimicrobiana y antiviral*

Una extensa literatura sobre la capacidad antimicrobiana del género *Salvia* revela una amplia variabilidad en cuanto a la sensibilidad de los microorganismos, así como la eficiencia de los compuestos probados cuando se consideran diferentes especies. Los aceites esenciales que tienen monoterpenoides volátiles como sus principales componentes son activos contra algunas bacterias, y los poseen las especies de salvia ricas en aceite esencial (*S. officinalis* L., *S. lavandulifolia* Vahl., *S. triloba* L. = *S. fructicosa* Mill.). Existe menos evidencia sobre el potencial antifúngico de estos aceites esenciales.

Generalmente, las bacterias Gram negativas no son sensibles o son menos sensibles al aceite esencial de la salvia si la comparamos con la sensibilidad de las bacterias Gram positivas. Otras investigaciones han dado mucho énfasis a los compuestos diterpenoides y flavonoides de los extractos de diferentes especies de *Salvia*, los cuales han mostrado una importante actividad inhibidora contra las bacterias (G-negativas y/o G-positivas) y hongos (Kintzios, 2000).

### *Actividad cardiovascular y renal*

En China, los remedios hechos de raíces de la *S. miltiorrhiza* son usados en la medicina moderna para tratar enfermedades tales como isquemia cardio-cerebral, trombosis, para el tratamiento del insomnio neurasténico y para la prevención del infarto de miocardio, ya que son capaces de reducir la agregación plaquetaria, y de eliminar la estasis sanguínea. Algunas fuentes identifican a los compuestos fenólicos como la principal fuente de una amplia gama de propiedades farmacológicas. La actividad cardiovascular es casi exclusivamente atribuida a la *Salvia miltiorrhiza* y sus preparaciones. Sin embargo, estudios en animales muestran que también la *Salvia officinalis* posee un potencial en la reducción de la presión sanguínea (Kintzios, 2000).

### *Actividad antimutagénica*

Los estudios de bio-antimutagénesis, con énfasis en antimutágenos naturales de salvia comenzaron a finales de los 80's cuando los extractos acuosas de *S. officinalis* probaron tener capacidad de suprimir un 90% la mutagenicidad de Trp-

P-2, que es un carcinógeno que se produce en algunos alimentos. También se ha demostrado en diferentes sistemas de pruebas, que extractos metanólicos, hexánicos y clorofórmicos reducían las mutaciones. Basándose en los resultados de varios estudios, los bio-antimutágenos de los extractos de salvia podrían utilizarse como agentes preventivos en las estrategias de intervención contra el cáncer sólo que se necesita de una mayor investigación sobre los principios activos de los extractos (Kintzios, 2000).

#### *Actividad antiúlceras péptica*

Se encontró que el ácido salvianólico A (Sal A) era un fuerte inhibidor de H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPasa gástrico (inhibidor de la bomba de protones, suprime la secreción gástrica mediante la inhibición de la H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> adenosina trifosfatasa de las células gástricas parietales) y era efectivo en la inhibición de la secreción de ácido y en la inhibición de las lesiones de las gastritis inducidas por estrés. Sal A fue aproximadamente 10 veces más fuerte inhibidor de H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPasa, pero menos eficaz en las actividades antisecretoras y antiulcerosas que el bien conocido agente anti-úlceras omeprazol (Kintzios, 2000).

#### *Actividad antiespasmódica*

También, la acción antiespasmódica *in vitro* ha sido reportada para los extractos de salvia. (*S. officinalis* L. y *S. triloba* L.), los cuales inhibieron las contracciones del músculo liso inducidas por acetilcolina, histamina, serotonina y cloruro de bario en un 60-80%. Aunque algunos de los componentes de los aceites esenciales de salvia como el pineno o el borneol (en dosis altas) muestran actividad espasmódica *per se*, han sido reportadas actividades antiespasmódicas dosis-dependiente del aceite esencial de la salvia *in vitro* e *in vivo* (Kintzios, 2000).

#### *Actividad hipoglucemiante*

Basándose en los datos etnofarmacológicos y los estudios farmacológicos, la *S. officinalis* L., la *S. lavandulifolia* Vahl., la *S. triloba* L. y la *S. aegyptiaca* poseen fuertes propiedades hipoglucemiantes. Los extractos acuosos de las hojas de *S. triloba*, que se usan en la medicina popular de las regiones del este del mediterráneo como agente hipoglicémico, se ensayaron en conejos

normoglucémicos e hiperglucémicos; y los datos que se obtuvieron sugieren que el tratamiento de *S. tribosa* produce hipoglucemia, principalmente mediante la reducción de la absorción intestinal de la glucosa (Kintzios, 2000).

#### *Efectos hepatoprotectores*

El daño de la integridad de las biomembranas celulares (debido a la peroxidación de los lípidos de sus ácidos grasos insaturados) causado por los radicales libres se considera como una vía en algunas lesiones hepáticas experimentales, y enfermedades hepáticas. Varios factores han sido reportados como dañinos al hígado, especialmente los radicales libres derivados del oxígeno y de otros productos químicos que son fuertes agentes nocivos. Por lo tanto, puede asumirse que los medicamentos con propiedades antioxidantes podrían ser eficaces en la protección del hígado contra el estrés oxidativo inducido por lesiones. Muchos datos sobre los efectos benéficos de los compuestos naturales en las lesiones hepáticas experimentales apoyan esta hipótesis. Entre estos compuestos de la salvia se encuentran el ácido salvianólico A y B, así como el ácido ursólico y oleanólico (Kintzios, 2000).

#### *Actividad toxica de plagas y repelente*

Las plantas aromáticas y sus aceites esenciales son considerados como el nuevo grupo más eficaz de los productos ecológicos en el control de plagas de insectos y arañas. Muchos experimentos que se han llevado a cabo muestran el potencial insecticida-acaricida y/o repelente de las plantas del género de *Salvia*. Los aceites esenciales y sus monoterpenoides son los componentes activos de mayor prevalencia. Estos muestran ya sea la toxicidad fumigante o tópica, así como efectos antialimentarios o repelentes cuando la concentración es suficientemente alta (Kintzios, 2000).

### **2.6.5 Composición**

Las salvias son atractivas para los científicos por sus componentes biológicamente activos, además de que varias de estas especias han sido utilizadas desde la antigüedad en la medicina popular y con fines culinarios (Janicsák et al., 2005; Kuźma et al., 2005; Aydoğmuş et al., 2006). Un número inusualmente grande de

metabolitos secundarios han sido aislados de las especies de *Salvia*. Estos incluyen ácidos fenólicos (tales como el ácido caféico, rosmarínico, ferúlico, gálico y clorogénico), taninos, aceites esenciales (tales como cineol, canfora, tujona), flavonoides y terpenoides (diterpenos, triterpenos). También han sido estudiados los compuestos antioxidantes mayoritarios en la salvia, tales como ácido rosmarínico y ácido carnósico. La riqueza y diversidad fitoquímica aunada a la abundancia de especies de este género alrededor mundo, ha alentado a la búsqueda de compuestos con propiedades biológicas interesantes en plantas de este género.

Las partes aéreas de las salvias por lo general contienen flavonoides, triterpenoides, y aceites esenciales con compuestos volátiles tales como los monoterpenoides. Mientras que los diterpenoides son el principal compuesto en la raíces. Sin embargo, las especies de *Salvia* americanas contienen diterpenoides en las partes aéreas (Kintzios, 2000).

#### **2.6.5.1 Terpenoides**

En la literatura investigaciones indican que los terpenoides son uno de los principales grupos de compuestos en el género *Salvia*. De estos compuestos los que han sido estudiados más ampliamente en las especies de salvia son los triterpenoides y los diterpenoides.

##### **2.6.5.1.1 Triterpenoides**

Los triterpenoides que se encuentran más comúnmente en todas las especies de *Salvia* son el ácido ursólico y el ácido oleanólico. También se han aislado otros triterpenoides de las especies de *Salvia* y se han establecido sus estructuras. Por ejemplo el anagadiol y el nivadiol, los cuales fueron aislados de *S. broussnetii* por Gonzalez et al. (1972). En las partes aéreas de las especies turcas de *Salvia* se han aislado un gran número de nuevos triterpenoides; como el ácido vergático de la *S. virgata* y el salvinemerol de la *S. nemorosa*. En conjunto 103 especies de *Salvia*, que crecen en diferentes países a lo largo del mundo, proporcionan cerca de 450 triterpenoides, que consisten de 200 distintas estructuras, de las cuales 78 han sido caracterizadas como nuevos compuestos. La diversidad de las

estructuras químicas y las interesantes actividades biológicas de estos triterpenos son evidentes (Topçu, 2006).

#### Ácido ursólico y ácido oleanólico

Compuestos tales como el ácido ursólico, tienen potente actividad antioxidante, y poseen actividad antiinflamatoria. El ácido ursólico y oleanólico generalmente se aíslan de las especies de *Salvia* con altos rendimientos (tabla 10). Estos dos triterpenos son constituyentes comunes de las plantas y pueden encontrarse como agliconas de saponinas o como ácidos libres. Los triterpenoides son uno de los grupos más importantes de las plantas medicinales; y tanto el ácido ursólico como el oleanólico tienen mucha importancia en los efectos farmacológicos, los cuales son similares porque sus estructuras químicas son parecidas (figura 5). La literatura proporciona mucha información sobre las propiedades anti-inflamatorias, hepatoprotectoras, antitumorales, anti-VIH, antimicrobianas, antifúngicas, gastroprotectoras, hipoglucémicas y anti-hiperlipidémicas de estos compuestos. Se ha encontrado que estos compuestos son relativamente no tóxicos, por ello se usan en cosméticos y en productos para la salud. Desafortunadamente no hay suficiente información sobre la distribución de ácido ursólico y oleanólico, ya que las investigaciones cuantitativas que se publican generalmente se extienden a unas pocas especies, y sólo reportan los datos cualitativos sobre la presencia de estos compuestos (Janicsák et al, 2005).

Tabla 10. Contenido de ácido oleanólico y ursólico en la *S. officinalis* y *S. lavandulifolia* (Janicsák et al, 2005).

Compuesto	<i>S. officinalis</i>	<i>S. lavandulifolia</i>
Ácido oleanólico (% peso seco)	1.559	1.840
Ácido ursólico (% peso seco)	3.825	4.019

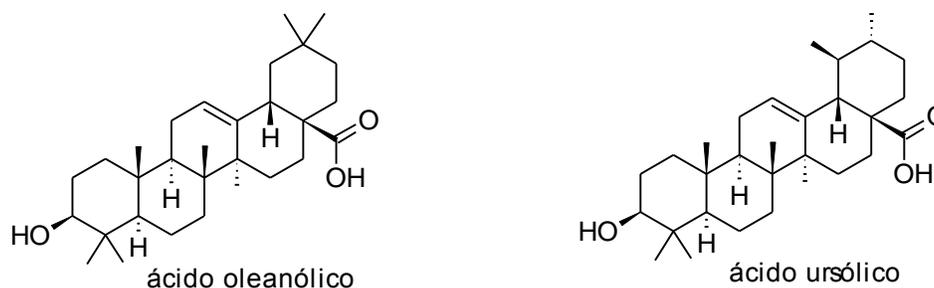


Figura 5. Estructura química del ácido oleanólico y ursólico

### 2.6.5.1.2 Diterpenos

Las especies de *Salvia* contienen diterpenoides tipo abietano, clerodano, pimarano y labdano. Los diterpenos tipo abietano (figura 6) se encuentran mayormente en las raíces, los diterpenos clerodano y labdano son más bien raros, con excepción de las especies americanas. En las especies americanas de *Salvia* los diterpenos clerodano se encuentran en las partes aéreas o en toda la planta (figura 6) (Kintzios, 2002).



Figura 6. Estructura química del abietano y pimarano.

### 2.6.5.2 Aceites esenciales

Los aceites volátiles de la salvia son mezclas químicamente complejas, a menudo contienen más de 100 componentes individuales, aunque predominan las moléculas terpenoides. Tienen puntos de ebullición bajos y pueden ser recuperados de los tejidos de las plantas por destilación de vapor. Además de aromatizar los alimentos, los aceites volátiles también actúan como antioxidantes y conservadores contra la putrefacción de los alimentos, en el extranjero se ha observado una amplia gama de aplicaciones en la aromaterapia y en el cuidado de la salud durante los últimos quince años.

Se considera que la *S. officinalis* tiene el más alto rendimiento de aceite esencial entre las especies de *Salvia* (tabla 11). Los compuestos mayoritarios del aceite esencial en *S. officinalis* son  $\alpha$ - y  $\beta$ -tujonas (35-50%). Otros compuestos son el 1, 8-cineol, borneol, canfor, carofileno y el acetato de linalool (figura 7) (Kintzios, 2002).

Tabla 11. Composición química (%) de los aceites esenciales de la *S. officinalis* (Kintzios, 2002). La variación se debe a que la información se obtuvo de diferentes referencias.

Compuesto	% en el aceite de <i>S. officinalis</i>
Acetato de linalool	0.16 - 4.70
Borneol	0.60 -15.50
Canfeno	0.80 -10.29
Canfor	0.40 -44.00
Carofileno	0.10 -10.00
1,8-Cineol	0.57 - 7.57
$\alpha$ -Pineno	0.10 - 8.70
$\beta$ -Pineno	0.20 -14.48
$\alpha$ -Tujona	1.20 -45.80
$\beta$ -Tujona	1.02 -40.10

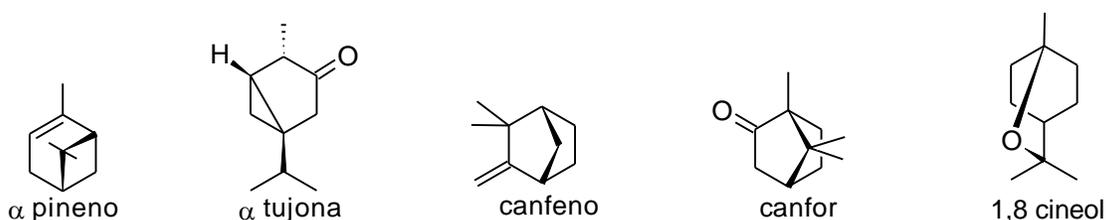


Figura 7. Estructura química de algunos terpenos que forman parte de los aceites esenciales

### 2.6.5.3 Compuestos fenólicos

La *Salvia* es una rica fuente de polifenoles, se han identificado más de 160 polifenoles, algunos de los cuales son únicos en este género. Los compuestos fenólicos son conocidos por mostrar una serie de actividades biológicas, incluyendo propiedades anticáncer, antibacteriana, antioxidante y anti-inflamatoria. Un gran número de estos compuestos polifenólicos son aparentemente construidos a partir del ácido caféico por una variedad de reacciones de condensación. Tanto las raíces secas como las partes aéreas de las salvias han mostrado que son una rica fuente de polifenoles polares incluyendo flavonoides y ácidos fenólicos, los cuales podrían ser potencialmente usados como materiales a base de hierbas (Lu y Foo, 2002; Kamatou et al, 2010).

#### 2.6.5.3.1 Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos constituyen la mayor parte de compuestos solubles en agua. La mayoría de estos compuestos en las especies de *Salvia* son exclusivamente

aquellos derivados de ácido caféico (tabla 12). Los monómeros que están frecuentemente presentes en las especies de *Salvia* son el ácido caféico y el ácido ferúlico. El ácido rosmarínico es el dímero caféico más abundante en las especies de *Salvia*, también es el principal responsable de la alta actividad antioxidante en las muestras de *Salvia*. Las concentraciones del ácido rosmarínico siempre han sido mucho más altas que las de ácido caféico (Lu y Foo, 2002; Kamatou et al, 2010). Las estructuras de algunos ácidos fenólicos se observan en la figura 8.

Tabla 12. Intervalo del contenido de ácidos fenólicos en diversas especies de *Salvia*.

Compuesto	Intervalos del contenido (mg/g peso seco)	Especies de salvia
Ácido vainílico	0.0048- 0.087	Salvias de Turquía, <i>S. fruticosa</i>
Ácido clorogénico	0.0043- 0.157	Salvias de Turquía, <i>S. fruticosa</i>
Ácido caféico	0.0012- 0.0204	Salvias de Turquía, <i>S. fruticosa</i> , <i>S. miltiorrhiza</i> , otras salvias.
Ácido ferúlico	0.0028- 0.340	Salvias de Turquía, <i>S. fruticosa</i>
Ácido rosmarínico	0.0052- 14.10	Salvias de Turquía, <i>S. fruticosa</i> , <i>S. miltiorrhiza</i> , otras salvias.
Ácido <i>p</i> -cumárico	0.0012- 0.090	Salvias de Turquía, <i>S. fruticosa</i>

Salvias de Turquía (Orhan et al, 2011), *S. fruticosa* (Dincer et al, 2012), *S. miltiorrhiza* (Chen et al, 2009), otras salvias (Wang et al, 2003).

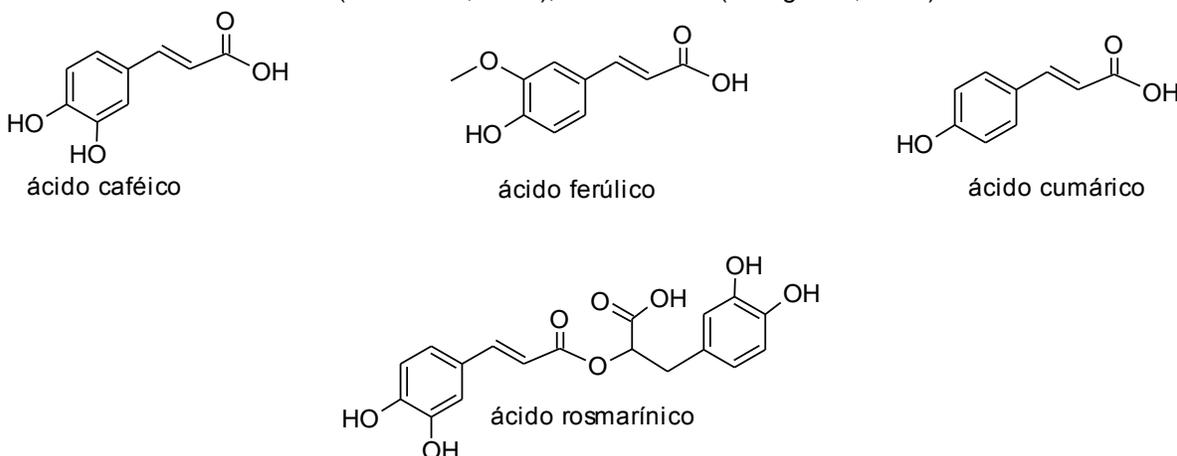


Figura 8. Estructura química de algunos ácidos fenólicos

### 2.6.5.3.2 Flavonoides

Los flavonoides están ampliamente distribuidos en las especies de *Salvia*, los principales están presentes como flavonas, flavonoles y sus glucósidos (tabla 13). Las flavonas hidroxiladas en la posición 6 se han reportado con importancia taxonómica para este género. La mayoría de los flavonoides son flavonas de

apigenina y luteolina (figura 9); y sus correspondientes derivados 6-hidroxilados (Lu y Foo, 2002).

*Tabla 13. Contenido de flavonoides en la S. fruticosa (Dincer et al, 2012).*

<i>Compuesto</i>	<i>Contenido (mg/g peso seco)</i>
Rutina	0.660-0.827
Mircetina	1.347-1.848
Morina	1.334-1.789
Quercetina	0.673-0.814
Canferol	0.600-0.642
Heperetina	0.719-0.883
Luteolina	0.898-1.153
Apigenina	0.543-0.867
(+)- Catequina	0.171-0.365
(-)- Epicatequina	0.270-0.770

c

*Figura 9. Estructura química de la luteolina y apigenina*

## **2.7 Descripción y propiedades de los compuestos a estudiar.**

Se dará una breve descripción de las características de los compuestos que se han seleccionado para estudiar en este trabajo. Los compuestos a estudiar dentro de los terpenoides son los triterpenoides: ácido ursólico y oleanólico. Dentro de los compuestos fenólicos son los ácidos fenólicos: ácido caféico, rosmarínico, ferúlico, cumárico y sinápico; y las flavonas: apigenina y luteolina.

### **2.7.1 Terpenoides**

La propiedad estructural que distingue a los terpenoides de otros productos naturales es la unidad de isopreno. Los terpenoides son ensamblajes repetitivos de unidades de isopreno, unidas cabeza con cola, en el caso normal. Con frecuencia a los terpenoides se les llama isoprenoides y se clasifican de acuerdo a la cantidad de unidades de isopreno que contienen (Mander y Wen, 2010).

#### **2.7.1.1 Clasificación de los triterpenos**

El isopreno es la unidad estructural fundamental de los terpenoides y compuestos afines, pero no existe en la naturaleza, al menos en los lugares donde se realizan las biosíntesis (Carey, 2003). Los terpenoides son considerados como formados

de una arreglo lineal de unidades de isopreno, seguido por varias ciclaciones y nuevos arreglos del esqueleto de carbono. También pueden ser modificados biosintéticamente por la pérdida o adición de átomos de carbono. Es útil clasificar los terpenoides de acuerdo a el número de unidades de isopreno de la cuales son derivados biogénicamente, aunque algunos carbonos pudieran ser añadidos o perdidos (Mander y Wen, 2010).

Tabla 14. Clasificación de triterpenos

Nombre	Unidades de isopreno	Átomos de carbono
Monoterpenoides	2	10
Sesquiterpenoides	3	15
Diterpenoides	4	20
Sesterpenoides	5	25
Triterpenoides	6	30
Tetraterpenoides	8	40

Un gran número de terpenoides tienen un esqueleto que puede ser formalmente relacionado al esqueleto de carbono de esteroides. El sistema numérico ampliamente usado del anillo de carbonos de los esteroides ha sido adoptado en parte en muchos esqueletos de terpenoides (figura 10) (Mander y Wen, 2010).

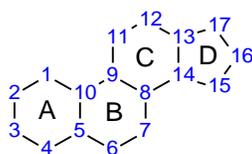


Figura 10. Sistema numérico usado en esteroides

### 2.7.1.2 Triterpenoides

Los triterpenoides se encuentran en varias partes de las plantas tales como flores, hojas, corteza, corcho, y madera. El más simple de los triterpenoides con respecto a la complejidad de su esqueleto de carbono es el compuesto de escualeno. El escualeno es el precursor de diversos grupos de los triterpenos policíclicos y se produce por vía de condensación de cabeza-cabeza de dos unidades de C15 de farnesil difosfato. Desde una perspectiva biológica, se asume que las estructuras más importantes de los triterpenoides son los esqueletos de carbono del oleanano, ursano, lupano, y dammarano-eufano. Estas estructuras policíclicas pueden producirse como triterpenoides libres o glicósidos triterpénicos. Los efectos

biológicos correspondientes de tales terpenoides son muy diversos y pueden resumirse como sigue: efecto antiinflamatorio, hepatoprotectivo, analgésico, antimicrobial, antimicótico, virostatico, inmunomodulatorio, y tónicos (Muffler et al, 2011).

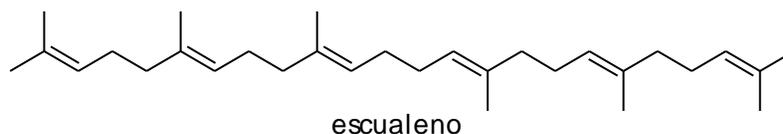


Figura 11. Estructura del escualeno

#### 2.3.1.2.1 Oleananos

Se forma el anillo E del precursor baccharano que lleva al grupo oleanano (figura 12). La forma de los oleananos es la más grande del grupo de los triterpenoides y se produce ampliamente en el reino vegetal frecuentemente como glicósidos (Mander y Wen, 2010).

#### 2.3.1.2.2 Ursanos

La migración del metil en el anillo E del oleanano lleva al esqueleto de ursano (figura 12), siguiendo una serie de movimientos-cambios del hidruro, (Mander y Wen, 2010).

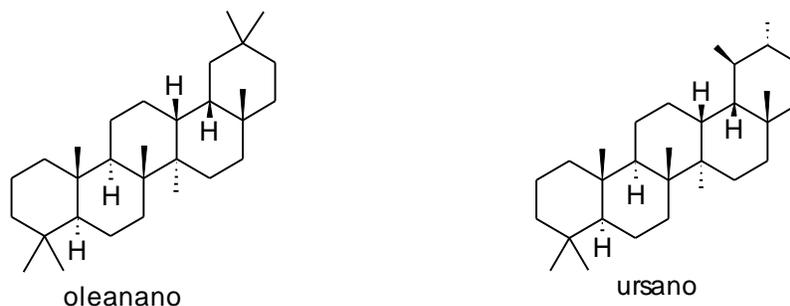
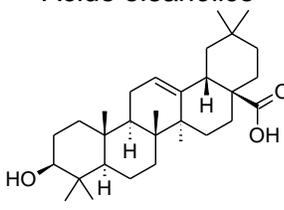
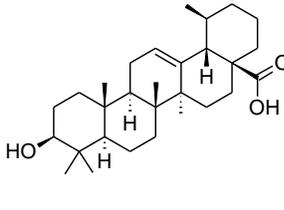


Figura 12. Esqueleto del oleanano y del ursano

En la tabla 15 se presenta información sobre los triterpenoides a determinar en las especies de salvia.

Tabla 15. Información de los triterpenoides ácido ursólico y oleanólico

Nombre y estructura	Propiedades físicas y químicas	Fuentes	Actividad biológica	Referencias
<p>Ácido oleanólico</p> 	<p>F. M. <math>C_{30}H_{48}O_3</math>                      P.M. 456.70                      p.f. 310°C                      Soluble en cloroformo 118 partes, en metanol 235 partes.</p>	<p>En las hojas del olivo y del muérdago europeo, en los brotes del clavo de olor. En aceitunas, y de las uvas.</p>	<p>Antioxidante                      Antiinflamatoria                      Hepatoprotectora                      Antitumoral                      Anti-VIH                      Antimicrobiana                      Antifúngica                      Gastroprotectora                      Hipoglucémica                      Anti-hiperlipidémica.</p>	<p>(O'Neil, 2006; Topçu, 2006; CSIC, 2010)</p>
<p>Ácido ursólico</p> 	<p>F.M. <math>C_{30}H_{48}O_3</math>                      P.M. 456.70                      p.f. 285-288°C                      Soluble a 15°C. En metanol 88 partes, en cloroformo 388 partes.</p>	<p>En las hojas y bayas de la gayuba y del arándano rojo. En la capa protectora de cera de las manzanas, peras, ciruelas, y otras frutas. En el orégano, tomillo y lavanda.</p>	<p>Antioxidante                      Antiinflamatoria                      Hepatoprotectora                      Antitumoral                      Anti-VIH                      Antimicrobiana                      Antifúngica                      Gastroprotectora                      Hipoglucémica                      Anti-hiperlipidémica.</p>	<p>(Sabinsa Corporation, 2000; O'Neil, 2006; Topçu, 2006)</p>

F.M.: fórmula molecular, p.f.: punto de fusión, P.M.: peso molecular

### 2.7.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son compuestos que tienen uno o más grupos hidroxilos unidos directamente a un anillo aromático. El fenol es la estructura sobre la cual se basa todo el grupo (figura 13). El anillo aromático en este caso es el benceno. Los compuestos fenólicos son característicos de las plantas y como un grupo que por lo general se encuentra como ésteres o glicósidos en lugar de como compuestos libres (Vermerris y Nicholson, 2008).

Recientes desarrollos en la ciencia biomédica enfatizan la participación de los radicales libres en muchas enfermedades. Hay cada vez más pruebas que sugieren que muchas enfermedades degenerativas, tales como disfunción cerebral, cáncer, enfermedades del corazón y disminución del sistema inmune pueden ser resultado del daño celular causado por radicales libres, y que los antioxidantes pueden jugar un rol importante en la prevención de enfermedades. Los compuestos fenólicos son conocidos por mostrar una serie de actividades biológicas, incluyendo propiedades anticáncer, antibacteriana, antioxidante y anti-inflamatoria (Kamatou et al, 2010).

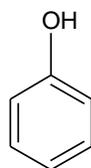


Figura 13. Estructura del fenol

### 2.7.2.1 Clasificación

El término fenólicos cubre a muchos y diversos grupos de compuestos químicos. Estos compuestos pueden ser clasificados de distintas maneras. Harbone y Simmonds (1964) clasificaron estos compuestos en grupos basándose en el número de carbonos en la molécula (Vermerris y Nicholson, 2008).

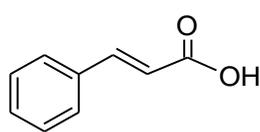
Tabla 16. Clasificación de los compuestos fenólicos

Estructura	Clase fenólica
C <sub>6</sub>	Fenoles simples
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Ácidos benzoicos y compuestos relacionados
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acetofenonas y ácidos fenilacéticos
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	<b>Ácidos cinámicos y relacionados</b>
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Cumarinas y relacionados
C <sub>15</sub>	Chalconas, auronas, dehidrochalconas
C <sub>15</sub>	Flavanos
C <sub>15</sub>	<b>Flavonas</b>
C <sub>15</sub>	Flavanonas
C <sub>15</sub>	Flavonoles
C <sub>15</sub>	Antocianidinas
C <sub>15</sub>	Antocianinas
C <sub>30</sub>	Biflavonoides
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> , C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Benzofenonas, estilbenos; xantonas
C <sub>6</sub> , C <sub>10</sub> , C <sub>14</sub>	Quinonas
C <sub>18</sub>	Betacianinas
Lignan, neolignan	Dímeros o oligómeros
Lignina	Polímeros
Taninos	Oligómeros o polímeros
Flobafenos	Polímeros

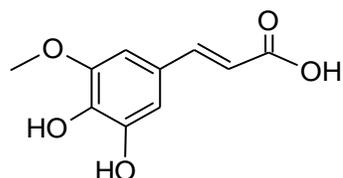
### 2.7.2.2 Ácidos cinámicos

Es un grupo ampliamente distribuido, hay seis ácidos cinámicos que son los más comunes, los cuales tienen un esqueleto C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, estos son el ácido cinámico, el ácido *p*-cumárico, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido 5-hidroxiferúlico y ácido

sinápico (figura 14, tabla 17). Todas las plantas probablemente contienen al menos tres de ellos. Los ácidos cinámicos por lo general se encuentran en las plantas como ésteres del ácido quínico, ácido siquímico, y ácido tartárico. Por ejemplo, el ácido clorogénico es un éster de ácido caféico y ácido quínico. Los ésteres cinámicos también se encuentran como ésteres de azúcar, o como ésteres de una variedad de otros ácidos orgánicos (Vermerris y Nicholson, 2008). En la tabla 17 se presenta información sobre los ácidos fenólicos a determinar en las especies de salvia.



ácido cinámico

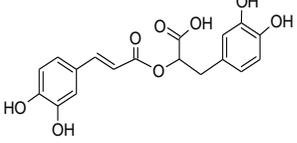
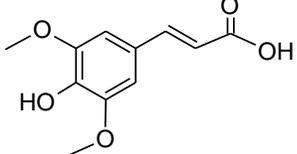


ácido 5 hidroxiferúlic

Figura 14. Estructuras del ácido cinámico y ácido 5-hidroxiferúlico.

Tabla 17. Información de los ácidos hidroxicinámicos y ácido rosmarínico

Nombre y estructura	Características	Principales fuentes	Actividad biológica	Referencias
<p>Ácido caféico</p>	<p>F.M. <math>C_9H_8O_4</math> P.M. 180.16 Se descompone entre 223-225°C. Soluble en agua caliente y en alcohol frío.</p>	<p>Tomillo, albahaca, anís, alcaravea, romero, estragón, mejorana, ajedrea, salvia, eneldo y ajeno. Papas dulces, semillas de girasol, habas de soya, espinaca, albaricoque y pimienta roja.</p>	<p>Antioxidante Antiinflamatoria Inhibe carcinogénesis. Inmunomoduladora</p>	<p>(Jiang, 2005; O'Neil, 2006; Chemical Book, 2008; Medina et al, 2011)</p>
<p>Ácido cumárico</p>	<p>F. M. <math>C_9H_8O_3</math> P.M. 164.16 p.f. 210-213°C. Soluble en agua caliente y en alcohol, éter.</p>	<p>En plantas comestibles como cacahuates, tomates, zanahorias y ajo.</p>	<p>Antioxidante Propiedades para reducir el riesgo de cáncer estómago.</p>	<p>(UPCommons, 2002; O'Neil, 2006)</p>
<p>Ácido ferúlico</p>	<p>F.M. <math>C_{10}H_{10}O_4</math> P.M. 194.18 p.f. 174°C. Soluble en agua caliente, en alcohol y acetato de etilo.</p>	<p>En cereales como el arroz integral, trigo integral y copos de avena. En el café, la alcachofa, cacahuete, naranjas, piñas y manzanas.</p>	<p>Antioxidante Protege contra el cáncer, y contra la degeneración ósea. Disminuye los niveles de glucosa en la sangre.</p>	<p>(O'Neil, 2006; Phytochemicals)</p>

<p>Ácido rosmarínico</p> 	<p>F.M. C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub> P.M. 360.31 p.f. 172-174°C. Soluble en etanol.</p>	<p>En plantas del grupo de la Lamiaceae: romero, salvia, orégano, albahaca, mejorana, tomillo, el grupo de menta y lavanda.</p>	<p>Astringente Antioxidante Antiinflamatoria Antiviral Antimutagénica Antibacterial Antitrombótica Antiplaquetaria</p>	<p>(Petersen y Simmonds, 2002; O'Neil, 2006)</p>
<p>Ácido sinápico</p> 	<p>F.M. C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> P.M. 224.21 p.f. 203-205°C. Soluble en metanol y etanol.</p>	<p>En la col, el brócoli y en menor cantidad en los jugos cítricos.</p>	<p>Antioxidante</p>	<p>(O'Neil, 2006; Sharma, 2011)</p>

F.M.: fórmula molecular, p.f.: punto de fusión, P.M.: peso molecular

### 2.7.2.3 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos C<sub>15</sub>, todos tienen la estructura C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Estos pueden agruparse en tres grandes clases basándose en su estructura general: chalconas, auronas y flavonoides. En cada caso, los dos anillos de benceno se encuentran unidos por un grupo de tres carbonos. El arreglo del grupo C<sub>3</sub> es lo que determina como clasificar a los compuestos. Los flavonoides (figura 15) tienen un anillo A, B y C, y por lo general se representan con el anillo A en el lado izquierdo (Vermeris y Nicholson, 2008).

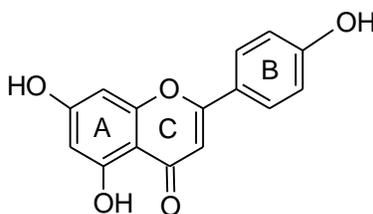


Figura 15. Estructura básica de los flavonoides

En típicos flavonoides uno de los grupos *meta*-hidroxil del anillo A aporta el oxígeno al heterociclo de seis átomos. El heterociclo de oxígeno de seis miembros de los flavonoides puede ser un pirano, pirilium, o un anillo pirona (figura 16). El anillo B es típicamente mono-hidroxilado, *orto*-dihidroxilado, o *vic*-trihidroxilado. El anillo B también puede tener metil-eteres como sustituyentes. Las flavanonas, los

flavonoles, las flavonas, las antocianidinas, y las antocianinas integran al grupo de la flavonoides.

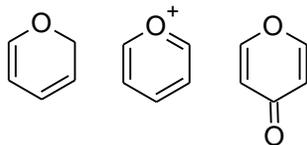


Figura 16. Estructura del pirano, pirilium y pirona

También las isoflavonas, isoflavanonas y los neoflavonoides son miembros del grupo flavonoide (figura 17). Todos ellos tienen la estructura C6-C3-C6 pero el anillo B está en diferente posición con respecto al oxígeno del heterociclo.



Figura 17. Esqueleto de los isoflavonoides y de los neoflavonoides

### 2.3.2.3.1 Flavonas

El heterociclo de las flavonas contiene un grupo cetona, y tiene un enlace carbono-carbono insaturado. Las flavonas son comunes en los angiospermas. Las flavonas más ampliamente distribuidas en la naturaleza son camferol, quercetina y miricetina (figura 18) (Vermerris y Nicholson, 2008). En la tabla 18 se presenta información sobre las flavonas a determinar en las especies de salvia.

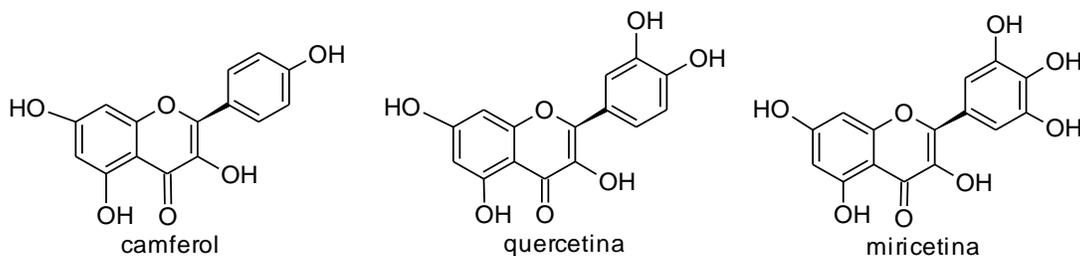
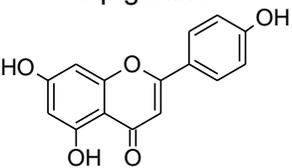
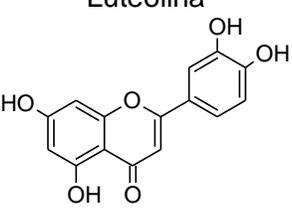


Figura 18. Estructuras del camferol, quercetina y miricetina

Tabla 18. Información de las flavonas apigenina y luteolina.

Nombre y estructura	Características	Principales fuentes	Actividad biológica	Referencias
<p style="text-align: center;">Apigenina</p> 	<p>F.M. C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>                      P.M. 270.24                      p.f. 345-350°C.                      Es soluble en solventes orgánicos como el etanol (0.3mg/ml), Moderadamente soluble en alcohol caliente.</p>	<p>En la manzanilla, manzanas, apio, judías, brócoli, cerezas, uvas, cebollas y tomates. En especias como la albahaca, el orégano, el estragón, el cilantro y el perejil.</p>	<p>Antioxidante                      Anticarcinogénica                      Antitumoral</p>	<p>(O'Neil, 2006; Luteolin, 2009; NTP, 2012)</p>
<p style="text-align: center;">Luteolina</p> 	<p>F.M. C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>                      P.M. 286.24                      Se descompone: 328-330°C.                      Es soluble en solventes orgánicos como el etanol (5 mg/ml)</p>	<p>En muchas familias de plantas. Fuentes dietéticas incluyen zanahorias, pimientos, apio, aceite de oliva, menta, tomillo, romero y orégano.</p>	<p>Antioxidante                      Antiinflamatoria                      Antimicrobiana                      Cardioprotectora                      Antidiabética                      Quimioterapéutica                      Neuroprotectora                      Antialérgica                      Quimiopreventiva.</p>	<p>(O'Neil, 2006; Lázaro, 2009; Lin et al, 2009)</p>

F.M.: fórmula molecular, p.f.: punto de fusión, P.M.: peso molecular

### 3. METODOLOGÍA

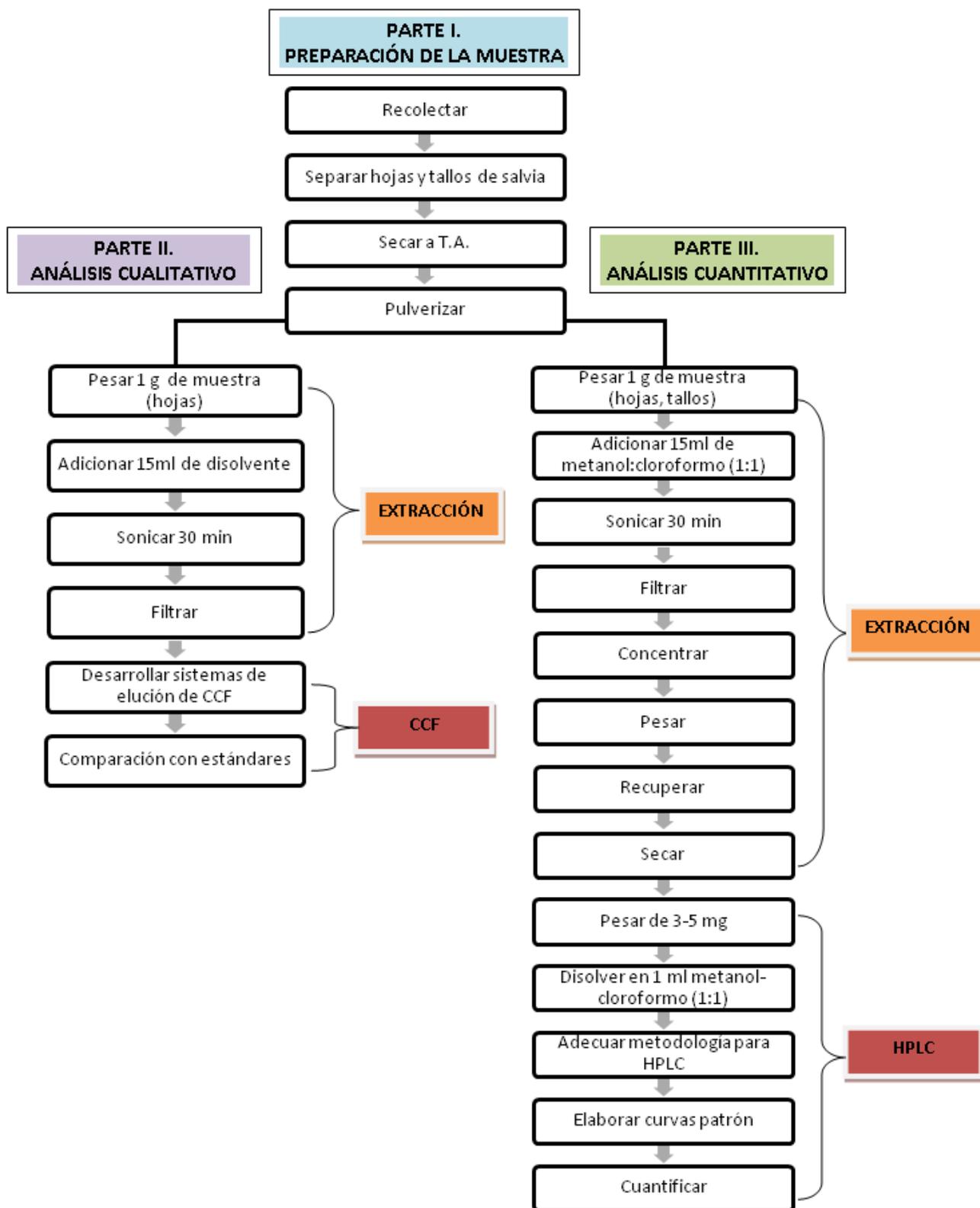


Figura 19. Metodología: Diagrama general

### **3.1 Materiales y métodos**

#### **3.1.1 Materiales**

La *Salvia mexicana*, *S. polystachya*, *S. amarissima* y *Salvia sp.*, se recolectaron del Bosque Tlálpán en la ciudad de México; la *S. cardinalis* se recolectó de Tehuacán, Puebla; y la *S. hispánica* y *S. officinalis* se seleccionaron de cultivos comerciales, de las marcas “Metztli” y “Aires del campo”, respectivamente. La *Salvia mexicana*, *S. polystachya*, *S. amarissima* y *S. cardinalis* (*S. fulgens*) fueron clasificadas por el M. en C. Francisco A. Basurto Peña (Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM).

#### **3.1.2 Disolventes y reactivos**

Se usaron los disolventes: acetato de etilo, acetona, ácido acético, ácido fosfórico, cloroformo y metanol. Los reveladores de cromatografía en capa fina: anisaldehído, DPPH y sulfato cérico. Los estándares de Sigma-Aldrich: ácido caféico, ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido oleanólico, ácido rosmarínico, ácido sinápico, ácido ursólico, apigenina y luteolina. Los estándares de laboratorio: la  $\alpha$ -amirina y la mezcla de ácido ursólico/oleanólico.

#### **3.1.3 Equipos**

Molino KRUPS GX4100; sonicador BRANSON (100 watts y 42 kHz); cromatoplasmas de Silica gel 60 F<sub>254</sub>; HPLC integrado con un desgasificador en línea Waters AF, una bomba binaria Waters 1525, un automuestreador Waters 2707, un detector de absorbancia dual Waters 2487, y un software EMPOWER; columna ODS HYPERSIL (250×46mm; 5 $\mu$ m).

#### **3.1.4 Parte I. Preparación de las muestras**

Se separaron las hojas de los tallos en todas las especies de salvia recolectadas. Tanto hojas como tallos se secaron a temperatura ambiente. Una vez secas las muestras, se pulverizaron con un molino KRUPS GX4100, se etiquetaron, se almacenaron a temperatura ambiente en recipientes herméticos y se resguardaron en la oscuridad.

### **3.1.5 Parte II. Análisis cualitativo**

#### **3.1.5.1 En hojas de la *Salvia polystachya* utilizando cuatro diferentes disolventes**

##### **a) Extracción en la *Salvia polystachya***

Con el fin de seleccionar un disolvente, se midieron los rendimientos de extracción en las hojas de la *Salvia polystachya* usando cuatro diferentes disolventes: acetato de etilo, acetona, metanol-cloroformo (1:1) y metanol. Estos disolventes se eligieron porque han sido usados previamente para la extracción de diversos compuestos en el género *Salvia*. Por ejemplo, el acetato de etilo se ha usado para extraer ácidos fenólicos (Orhan et al, 2011) y flavonas (Gohari et al, 2010); la acetona para flavonoides (Nikolova et al, 2006) y triterpenoides (Kuźma et al, 2005; Farimani et al, 2011); el metanol-cloroformo (1:1) para ácidos fenólicos, flavonoides y triterpenoides (Kamatou et al, 2010); y el metanol para ácidos fenólicos (Orhan et al, 2011), triterpenoides (Janicsák et al, 2005) y flavonas (Gohari et al, 2010).

Las extracciones se realizaron por triplicado colocando 1.0 g de las hojas de la *Salvia polystachya* en un matraz Erlen-Meyer de 25ml, con 15 ml de disolvente (acetona, acetato de etilo, metanol, metanol-cloroformo (1:1)). La mezcla se sonicó por un periodo de 30 minutos a temperatura ambiente en un sonicador BRANSON (100 watts y 42 kHz). Los extractos se filtraron y se almacenaron en viales de 20ml. Se calcularon los rendimientos de extracción para los cuatro disolventes utilizados, y se identificaron los compuestos de interés mediante cromatografía en capa fina (CCF).

##### **b) Cromatografía en capa fina de los extractos de la *S. polystachya***

Para seleccionar los sistemas de elución, se realizaron varios ensayos con diversos disolventes y en distintas proporciones de ellos. Se seleccionaron los sistemas que mostraron una mejor separación de los compuestos a estudiar. Para poder identificar los compuestos en las muestras (ácido caféico, ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido rosmarínico, ácido sinápico, ácido ursólico/oleanólico,  $\alpha$ -amirina), y poder comparar los valores  $R_f$ , se eluyeron los estándares bajo las

mismas condiciones experimentales de las muestras (tabla 19). Las cromatoplasmas que se emplearon fueron de Silica gel 60 F<sub>254</sub>.

Tabla 19. Sistemas seleccionados para identificar cualitativamente los compuestos de la salvia mediante cromatografía en capa fina (CCF).

Compuesto a identificar	Eluyente	Revelador
Ácido ferúlico Ácido cumárico Ácido caféico Ácido sinápico	Acetato- hexano (6:4)	DPPH Sulfato cérico
Ácido rosmarínico	Acetato-metanol- cloroformo (5:3:2) con gotas de ácido acético.	DPPH Sulfato cérico
Ácido ursólico/oleanólico	Acetato- hexano (1:1)	Anisaldehído
α-amirina	Hexano- acetato (8:2)	Anisaldehído

### 3.1.5.2 En hojas de las siete especies de salvia utilizando como disolvente el metanol-cloroformo (1:1)

#### a) Extracción en las siete especies de salvia

Se seleccionó al metanol-cloroformo (1:1) como disolvente de extracción para analizar las siete especies de salvia porque este disolvente se ha usado en trabajos publicados para la extracción de compuestos equivalentes a los estudiados (Kamatou et al, 2010). Otra razón es que este disolvente obtuvo buenos rendimientos de extracción en la *Salvia polystachya* y sus extractos contuvieron a los compuestos de interés (tabla 20 y 21, pp. 48 y 49 respectivamente).

La extracción se realizó colocando 1.0 g de muestra en un matraz Erlen-Meyer de 25ml, con 15 ml de metanol-cloroformo (1:1). La mezcla se sonicó por un periodo de 30 minutos a temperatura ambiente en un sonicador BRANSON (100 watts y 42 kHz). Los extractos se filtraron y se almacenaron en viales de 20ml.

#### b) Cromatografía en capa fina de extractos de las siete especies de salvia

Los extractos obtenidos de las hojas de las siete especies de salvia se analizaron por CCF. La metodología se mencionó anteriormente en donde se realizó la identificación de compuestos por CCF de los extractos de la *S. polystachya*, y los sistemas de elución se presentan en la tabla 19 (arriba pp.43).

### **3.1.6 Parte III. Análisis cuantitativo**

#### **a) Extracción**

Se colocó 1.0 g de muestra seca y pulverizada en un matraz Erlen Meyer de 25 ml, con 15ml de metanol-cloroformo (1:1), la mezcla se sonicó por un periodo de 30 minutos en un sonicador BRANSON (100 watts y 42 kHz) a temperatura ambiente, y posteriormente se filtró. El disolvente se evaporó en un rotavapor BUCHI R-205 a 48°C, y se calculó el rendimiento de extracción. Los extractos concentrados se recuperaron con metanol-cloroformo para colocarlos en el vial correspondiente, y se secaron a temperatura ambiente. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada una de las muestras de salvia, en total fueron siete polvos de las hojas y siete de los tallos.

#### **b) Análisis en HPLC**

El equipo HPLC que se usó estaba integrado de un desgasificador en línea Waters AF, de una bomba binaria Waters 1525, de un automuestreador Waters 2707, de un detector de absorbancia dual Waters 2487, y de un software EMPOWER.

##### **• Condiciones de HPLC para la cuantificación de triterpenoides**

Para la cuantificación de los triterpenoides pentacíclicos se adecuó el método propuesto por Zhou et al (2011), se modificó el flujo de 1ml/min a 0.5 ml/min, la inyección de 20 µl a 10 µl, y la proporción de las fases móviles de 85:15 a 90:10 (A:B, v/v). Las condiciones finales quedaron como sigue: se utilizó una columna ODS HYPERSIL (250×46mm; 5µm) la cual se mantuvo a temperatura ambiente; la fase móvil consistió en metanol (eluyente A) y ácido fosfórico (0.1%) (eluyente B); la programación de los solventes fue isocrática A 90% y B 10%; la longitud de onda fue colocada en 210nm; el flujo fue de 0.5 ml/min; y el volumen de inyección de la muestra fue de 10 µl. Para identificar los compuestos, los picos encontrados en las muestras se compararon con los tiempos de retención de los picos que mostraron de los estándares (ácido oleanólico y ácido ursólico).

##### **• Condiciones de HPLC para la cuantificación de compuestos fenólicos**

Para la cuantificación por HPLC, se adecuó el método propuesto por Adzet et al (1988), sólo se modificó el flujo de 2.4 ml/min a 1.5 ml/min. Se usó la columna

ODS HYPERSIL (250x46mm; 5µm) que se mantuvo a 40°. La longitud de onda se colocó en 340nm. El flujo fue de 1.5 ml/min, con temperatura de 40°C. La fase móvil consistió de metanol (eluyente A) y ácido acético-agua (5:95) (eluyente B). Se aplicaron los siguientes pasos para el gradiente escalonado: 0min, 30%B; 8min, 30%; 9min, 39%; 15min, 39%; 16min, 48%; 20min, 48%; 25.7min, 99%; 30min, 30%. El volumen de inyección de la muestra fue de 10 µl. Para identificar los compuestos, los picos encontrados en las muestras se compararon con los tiempos de retención de los picos de los estándares (ácido caféico, ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido rosmarínico, ácido sinápico, apigenina y luteolina).

- **Curvas patrón**

Se utilizaron las condiciones de HPLC previamente descritas para realizar las curvas patrón con los estándares comerciales (ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido caféico, ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido rosmarínico, ácido sinápico, apigenina y luteolina, Sigma-Aldrich). Los estándares se disolvieron en metanol con ayuda de sonicación. Las curvas patrón se encuentran en el anexo 6.2.

- **Preparación de la muestra para inyección al HPLC**

Se pesaron aproximadamente 5mg de los extractos secos en viales de 2ml y se disolvieron en 1ml de metanol-cloroformo (1:1). Se utilizaron las condiciones de HPLC previamente descritas para cada una de las muestras.

- **Cuantificación**

Para obtener los miligramos del compuesto estudiado por mililitro de solvente, las áreas obtenidas (mediante HPLC) de las muestras se usaron en la ecuación de las curvas de calibración (área vs mg de compuesto/ml de solvente). Con la concentración de la muestra medida (extracto/solvente) se obtuvieron los miligramos de compuesto por miligramos del extracto. Finalmente con los valores del extracto que se obtuvo de la planta, se calcularon los miligramos del compuesto por gramo de planta. Los resultados se presentaron como mg del compuesto/g de planta.

- **Análisis estadístico: Pruebas de Múltiples Rangos (Método: 95.0 porcentaje Duncan)**

La Prueba de Múltiples Rangos de Duncan es una prueba para determinar la diferencia entre pares de medias. Para esta prueba se utilizó Statgraphics, que es un programa para gestionar y analizar valores estadísticos. Lo que este programa realiza con el método de Duncan es lo siguiente (Marques, 1991):

1. Determina el error estándar a cada promedio.
2. Con los grados de libertad del error y el nivel de significancia determina los valores de los intervalos significativos.
3. Determina los rangos mínimos significativos.
4. Ordenan de manera creciente los promedios.
5. Compara las medias ordenadas:
  - a) Obtiene la diferencia del promedio más alto con el más bajo y compara esta diferencia con el intervalo mínimo significativo, si esta diferencia no es significativa entonces todas las otras no son significativas, si la diferencia es significativa se continúa con b).
  - b) Calcula la diferencia entre el valor más alto y el penúltimo, y la compara con el intervalo mínimo significativo.
  - c) Este procedimiento continúa hasta que todas las medias han sido comparadas con la media más grande.
  - d) A continuación compara la segunda media más grande con la más pequeña y compara la diferencia con el intervalo mínimo significativo. Este procedimiento continúa hasta que han sido comparadas las diferencias entre todos los posibles pares.

Si se observa que una diferencia es mayor que el intervalo mínimo significativo, se concluye que la pareja de medias comparadas son significativamente diferentes.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Parte I. Selección y preparación de la muestra

En la figura 20 se pueden observar las siete diferentes especies de salvia que se seleccionaron para ser analizadas. La *Salvia mexicana*, *S. polystachya*, *S. amarissima* y *Salvia sp.*, se recolectaron del Bosque Tlálpán en la ciudad de México; la *S. cardinalis* se recolectó de Tehuacán, Puebla; y la *S. hispánica* y *S. officinalis* se seleccionaron de cultivos comerciales. La *Salvia mexicana*, *S. polystachya*, *S. amarissima* y *S. cardinalis* (*S.fulgens*) fueron clasificadas por el M. en C. Francisco A. Basurto Peña (Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM).

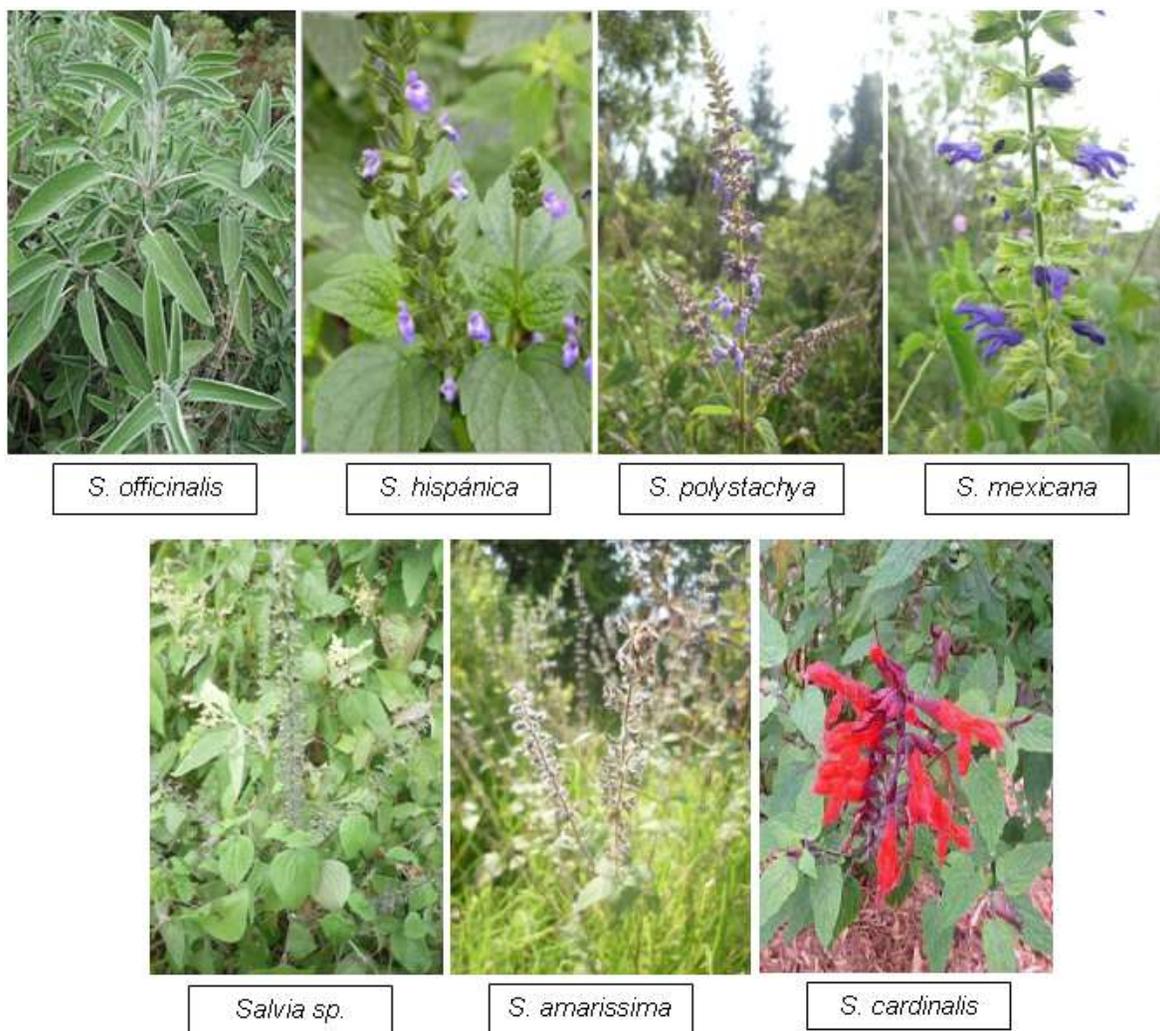


Figura 20. Salvias seleccionadas

En general, las especies de salvia fueron arbustos típicamente de 50-100 cm de altura, herbáceos o leñosos, con atractivas flores en varios colores, esto dependiendo de la especie que se trate. En las siete especies de salvia se separaron hojas de tallos, ambos órganos se secaron a temperatura ambiente y se molieron. Después de esto, todas las muestras fueron etiquetadas, almacenadas a temperatura ambiente en recipientes herméticos y resguardados en la oscuridad.

## 4.2 Parte II. Análisis cualitativo

### 4.2.1 Hojas de la *Salvia polystachya* con cuatro diferentes disolventes

#### a) Extracción en la *Salvia polystachya*

Para elegir un disolvente que permitiera obtener más cantidad de los compuestos de interés, se realizaron varias extracciones en las hojas de la *Salvia polystachya* usando cuatro diferentes disolventes: acetato de etilo, acetona, metanol-cloroformo (1:1), metanol. Estos disolventes se seleccionaron porque han sido utilizados previamente para realizar extracciones de diversos compuestos en las especies de salvia (Janicsák et al, 2005; Nikolova et al, 2006; Kamatou et al, 2010; Orhan et al, 2011).

Tabla 20. Rendimientos de extracción en la *S. polystachya* usando distintos disolventes

Disolvente	% Rendimiento de extracción
Acetato de etilo	4.37 ± 0.14
Acetona	5.41 ± 0.57
Metanol-cloroformo (1:1)	10.87 ± 0.30
Metanol	13.34 ± 0.70

Los disolventes que presentaron mayores rendimientos de compuestos extraídos en las hojas de la *Salvia polystachya* fueron el metanol y el metanol-cloroformo (1:1) (tabla 20). Se presentó una diferencia significativa entre los rendimientos de extracción de los cuatro disolventes (tabla 31 pp. 65).

#### b) Cromatografía en capa fina de los extractos de la *S. polystachya*

Los cuatro extractos obtenidos de la *S. polystachya* se analizaron mediante cromatografía en capa fina para la detección de compuestos fenólicos y triterpenoides. Los sistemas de elución que se usaron se muestran en la tabla 19 (pp 43).

Tabla 21. Presencia de los compuestos fenólicos y triterpenoides en los extractos de la *S. polystachya* mediante cromatografía en capa fina

Compuestos/Extractos	Con acetona	Con acetato de etilo	Con metanol	Con metanol-cloroformo (1:1)
Ácido caféico	X	X	✓	✓
Ácido cumárico	X	X	✓	✓
Ácido ferúlico	X	X	✓	✓
Ácido rosmarínico	✓	X	✓	✓
Ácido ursólico/oleanólico	✓	✓	✓	✓
$\alpha$ -amirina	✓	✓	✓	✓

(X: no presente. ✓ : presente)

En la tabla 21 se puede observar que los extractos de metanol y metanol-cloroformo (1:1) presentaron tanto a los compuesto fenólicos: ácido caféico, cumárico, ferúlico, rosmarínico; como a los compuestos triterpenoides: ácido ursólico/oleanólico,  $\alpha$ -amirina. En cambio, los extractos de acetona mostraron a los compuestos triterpenoides y al ácido rosmarínico; mientras que los extractos de acetato de etilo sólo presentaron a los compuestos triterpenoides.

Con los resultados obtenidos de los rendimientos de extracción y de la detección de compuestos en cromatografía en capa fina, se concluye que el metanol y el metanol-cloroformo (1:1) son los mejores disolventes para realizar las extracciones de compuestos fenólicos y triterpenoides en la *Salvia polystachya*; por lo tanto, estos podrían aplicarse en otras especies de salvia.

#### 4.2.2 Hojas de las siete especies de salvia con metanol-cloroformo (1:1)

##### a) Extracción en las siete especies de salvia

De acuerdo con los resultados obtenidos de las pruebas de disolventes en la sección anterior, se seleccionó al metanol-cloroformo (1:1) para realizar las extracciones en las siete especies de salvia por el buen desempeño que mostró en las hojas de la *S. polystachya* (tabla 20 y 21, pp. 48 y 49). Otra razón por cual se eligió a este disolvente fue porque su uso se menciona en trabajos publicados donde se extrajeron tanto compuestos fenólicos como triterpenoides de distintas especies de salvia (Kamatou et al, 2010). Las extracciones consistieron en sonicar las muestras con disolvente por un periodo de 30 minutos a temperatura ambiente, después los extractos se filtraron y almacenaron. Estos extractos se

analizaron cualitativamente mediante cromatografía en capa fina, los resultados se muestran en el siguiente apartado.

**b) Cromatografía en capa fina de los extractos de las siete especies de salvia**

Los sistemas de elución que se aplicaron para la identificación de los compuestos de interés en las especies de salvia se encuentran en la tabla 19 (pp. 43). A continuación se presentan las cromatoplasmas obtenidas de los extractos de metanol-cloroformo (1:1) de las hojas de las siete especies de salvia.

- Presencia de triterpenoides

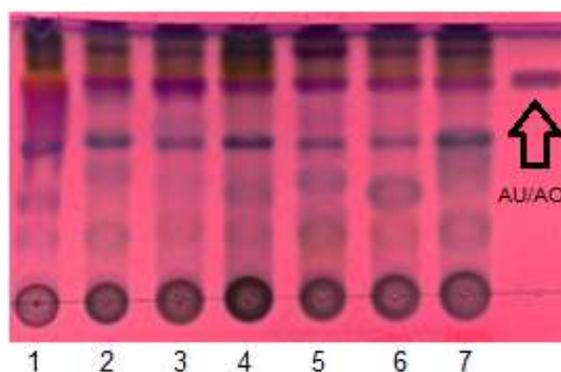


Figura 21. Cromatoplasma para identificar el ácido ursólico/oleanólico (AU/AO) en las especies de salvia. 1: *S. officinalis*; 2: *S. polystachya*; 3: *S. mexicana*; 4: *S. hispánica*; 5: *S. amarissima*; 6: *S. sp.*; 7: *S. cardinalis*. Revelador anisaldehído.

En la figura 21 se muestra en el costado derecho de la cromatoplasma la mancha del estándar ácido ursólico-oleanólico, y se observa que al mismo Rf del estándar (0.85) coinciden manchas en todas las especies de salvia; lo que sugiere que el ácido ursólico-oleanólico se encuentra presente en todas las especies de salvia analizadas.

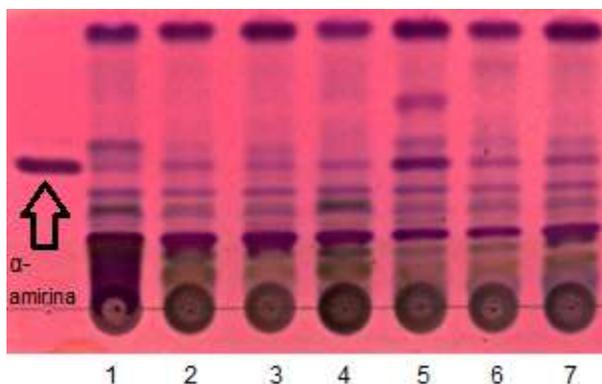


Figura 22. Cromatografía para identificar el  $\alpha$ -amirina en las especies de salvia. 1: *S. officinalis*; 2: *S. polystachya*; 3: *S. mexicana*; 4: *S. hispánica*; 5: *S. amarissima*; 6: *S. sp.*; 7: *S. cardinalis*. Revelador anisaldehído.

En la figura 22 se observa que todas las especies de salvia presentaron una mancha que coincidía con el Rf del estándar  $\alpha$ -amirina ( $R_f=0.51$ ); con estos resultados se puede decir que todas las especies de salvia estudiadas poseen  $\alpha$ -amirina. En la figura 22 también se muestra que la mancha de la *Salvia amarissima* (5) es la de mayor intensidad; lo cual sugiere que la concentración de  $\alpha$ -amirina en esta salvia es mayor que en las demás.

- Presencia de compuestos fenólicos

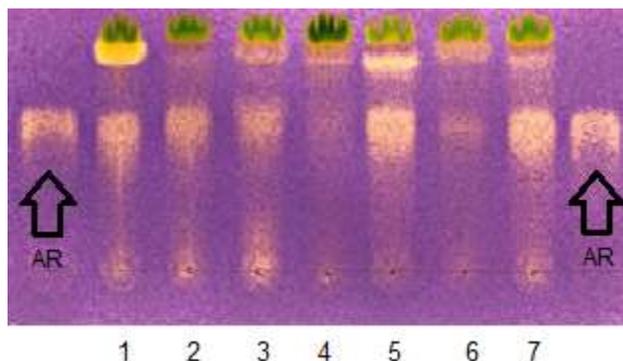
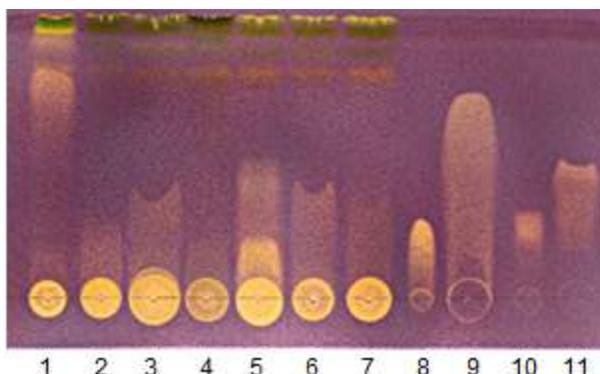


Figura 23. Cromatografía para identificar ácido rosmarínico (AR) en las especies de salvia. 1: *S. officinalis*; 2: *S. polystachya*; 3: *S. mexicana*; 4: *S. hispánica*; 5: *S. amarissima*; 6: *S. sp.*; 7: *S. cardinalis*. Revelador DPPH.

En la figura 23 se muestra la mancha del estándar ácido rosmarínico que posee un Rf de 0.60, al mismo Rf del estándar se presentan manchas en las siete especies de salvia. Por lo tanto, el ácido rosmarínico se encuentra en todas las especies de salvia analizadas. Las manchas de la *Salvia hispánica* (4) y de la

*Salvia sp.* (6) son de menor intensidad que las demás salvias; lo cual sugiere que la concentración de ácido rosmarínico para estas especies de salvia es menor.



*Figura 24.* Cromatografía para identificar al ácido ferúlico, cumárico, caféico y sinápico en las especies de salvias. 1: *S. officinalis*; 2: *S. polystachya*; 3: *S. mexicana*; 4: *S. hispánica*; 5: *S. amarissima*; 6: *S. sp.*; 7: *S. cardinalis*. 8: ácido ferúlico; 9: ácido cumárico; 10: ácido caféico; 11: ácido sinápico. Revelador DPPH.

La figura 24 muestra la presencia de algunos compuestos fenólicos en los extractos de las especies de salvia. Por la intensidad de las manchas de las muestras, se puede decir que las concentraciones de estos compuestos (ácido ferúlico, cumárico, caféico y sinápico) son bajas en comparación de los compuestos antes identificados (ácido ursólico- oleanólico,  $\alpha$ -amirina y ácido rosmarínico). Por la similitud en la estructura química de estos ácidos fenólicos, fue difícil hacer una separación clara entre ellos (figura 24); sin embargo, se alcanza a observar la presencia de ácido caféico y tal vez cumárico en todas las especies de salvia.

Después de realizar las extracciones con metanol-cloroformo (1:1) de las hojas en las siete especies de salvia, se procedió a la identificación de los compuestos triterpenoides y fenólicos en los extractos obtenidos mediante CCF. Se encontró que las siete especies de salvia contenían los siguientes compuestos: ácido ursólico-oleanólico,  $\alpha$ -amirina, ácido rosmarínico y ácido caféico.

### 4.3 Parte III. Análisis cuantitativo

Las extracciones se realizaron por triplicado para hojas y tallos de las siete especies de salvia; se usó como disolvente el metanol-cloroformo (1:1); y se calcularon los rendimientos de extracción para cada una de las muestras (tabla 22 pp. 53). Posteriormente, para la identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos y triterpenoides de las muestras, se adecuaron las condiciones del HPLC con métodos mencionados en la literatura (metodología pp. 44, 45). Se realizaron las curvas patrón para cada estándar (anexo 6.2 pp.66) y las muestras se prepararon para ser inyectadas al HPLC (pp.45). Por último, se realizaron las cuantificaciones de los compuestos estudiados en las especies de salvia seleccionadas.

#### a) Extracción

Tabla 22. Rendimientos de extracción de las hojas y de los tallos en las siete salvias, usando metanol-cloroformo (1:1) como disolvente

Especie de salvia	% Rendimiento de extracción (hojas)	% Rendimiento de extracción (tallos)	Relación entre hojas- tallos
<i>S. amarissima</i>	9.92 ± 0.18	2.83 ± 0.15	3.51
<i>S. cardinalis</i>	9.38 ± 0.59	2.69 ± 0.09	3.49
<i>S. hispánica</i>	11.41 ± 0.38	5.47 ± 0.18	2.09
<i>S. mexicana</i>	10.19 ± 0.02	2.55 ± 0.18	4.00
<i>S. officinalis</i>	16.52 ± 0.23	6.92 ± 0.24	2.39
<i>S. polystachya</i>	10.69 ± 0.17	5.02 ± 0.58	2.13
<i>S. sp.</i>	10.22 ± 0.40	4.23 ± 0.19	2.42

La tabla 22 muestra que se obtuvo una mayor extracción de compuestos en las hojas de la *Salvia officinalis*, y después de estas le siguieron las de la *Salvia hispánica* (tabla 32 pp. 65). En los tallos, el rendimiento de extracción más alto se mostró en la *Salvia officinalis*, seguido por dos salvia mexicanas, la *Salvia hispánica* y la *Salvia polystachya* (tabla 33 pp.65). Con estos resultados se puede inferir que las especies de salvia con mayores rendimientos de extracción poseerán una mayor concentración de compuestos bioactivos en comparación con las demás especies de salvia.

En la tabla 22 se puede observar que los rendimientos de extracción en las hojas de las especies de salvia fueron de dos a cuatro veces mayores que en los tallos.

Esto puede deberse a que una de las funciones de las hojas es la de almacenamiento de sustancias nutritivas, mientras que para los tallos es la de transporte.

## b) Análisis en HPLC

A continuación se presentan los resultados del análisis mediante HPLC de los compuestos fenólicos y triterpenoides en siete especies de salvia.

### • Compuestos fenólicos

Tabla 23. Tiempo de retención de los compuestos fenólicos (estándares sigma)

<i>Estándares</i>	<i>Tiempo de retención (T.R).</i>
Ácido caféico	3.23±0.05
Ácido cumárico	4.73±0.05
Ácido sinápico	4.92±0.05
Ácido ferúlico	5.19±0.06
Ácido rosmarínico	8.43±0.03
Luteolina	16.79±0.21
Apigenina	20.93±0.25

Columna: ODS HYPERSIL (250×46mm; 5µm), temperatura: 40°C, λ: 340nm, flujo: 1.5ml/min, fase móvil: metanol y ácido acético-agua (5:95) con gradiente, tiempo: 25 min.

En la tabla 23 se muestra que los ácidos hidroxicinámicos (ácido caféico, cumárico, sinápico y ferúlico) fueron los primeros en eluir con tiempos de retención entre 3.2 y 5.2 minutos; después eluyó el ácido rosmarínico con 8.4 minutos, y finalmente las flavonas: luteolina y apigenina con tiempos de 16.8 y 20.9 minutos respectivamente.

Los tiempos de retención obtenidos de los estándares se compararon y confirmaron con el orden de elución de varios compuestos fenólicos reportados por Adzet et al (1998). De acuerdo con los tiempos de retención presentados en la tabla 23 fue posible identificar los compuestos fenólicos en las muestras de salvia. Los cromatogramas de las muestras se presentan en las figuras 25 y 26 (pp. 71, 72)

Tabla 24. Contenido de los compuestos fenólicos en las especies de salvia estudiadas (mg/g de planta seca)

Especie de salvia	Ácido caféico	Ácido cumárico	Ácido sinápico	Ácido ferúlico	Ácido rosmarínico	Luteolina	Apigenina
<b>HOJAS</b>							
<i>S. amarissima</i>	0.053±0.004	0.024±0.001	-	0.021±0.001	3.272±0.065	0.224±0.013	-
<i>S. cardinalis</i>	0.056±0.008	0.016±0.003	-	0.004±0.001	2.168±0.376	-	0.601±0.054
<i>S. hispánica</i>	0.040±0.010	1.502±0.068	-	-	0.212±0.016	0.014±0.001	0.092±0.007
<i>S. mexicana</i>	0.054±0.007	-	-	-	2.108±0.087	0.172±0.003	-
<i>S. officinalis</i>	0.250±0.011	0.147±0.022	-	0.023±0.001	6.618±0.044	-	0.202±0.005
<i>S. polystachya</i>	0.077±0.003	2.984±0.343	-	-	4.425±0.396	-	0.300±0.013
<i>S. sp</i>	0.032±0.001	0.051±0.001	-	-	1.065±0.030	0.482±0.040	0.020±0.004
<b>TALLOS</b>							
<i>S. amarissima</i>	0.004±0.001	0.013±0.001	-	-	0.891±0.074	0.004±0.001	0.018±0.002
<i>S. cardinalis</i>	0.015±0.001	-	-	-	0.639±0.013	-	0.006±0.001
<i>S. hispánica</i>	0.025±0.001	-	-	0.052±0.011	0.468±0.004	-	0.016±0.001
<i>S. mexicana</i>	0.009±0.001	-	-	-	0.254±0.009	-	0.013±0.001
<i>S. officinalis</i>	0.021±0.001	0.039±0.004	-	0.0034±0.0004	0.880±0.139	-	0.004±0.001
<i>S. polystachya</i>	0.026±0.001	0.138±0.013	-	-	0.756±0.021	-	0.027±0.001
<i>S. sp.</i>	0.004±0.001	-	-	-	0.099±0.004	-	-

-: No detectado cromatográficamente

- Ácidos hidroxicinámicos: ácido caféico, cumárico, ferúlico y sinápico

En la tabla 24 se muestra que las hojas de las siete especies de salvia estudiadas presentaron ácido caféico; seis especies mostraron ácido cumárico; ninguna presentó ácido sinápico, y sólo en tres se detectó ácido ferúlico. La mayor concentración de ácido caféico en hojas la obtuvo la *Salvia officinalis*, seguida de la *Salvia polystachya* (tabla 34 pp.74). En cuanto al ácido cumárico, las hojas que mostraron la mayor concentración fueron las de la *Salvia polystachya*. Finalmente, el contenido más alto de ácido ferúlico se halló en las hojas de la *Salvia officinalis* y de la *Salvia amarissima* (tabla 34 pp.74).

En la tabla 24 también podemos observar que los tallos de las siete especies de salvia presentaron ácido caféico, y que sólo en tres especies se detectó ácido cumárico y en dos ácido ferúlico. Los tallos que presentaron las concentraciones más altas en ácido caféico fueron los de la *Salvia polystachya* y *Salvia hispánica*; los tallos de la *Salvia polystachya* también mostraron la mayor concentración en ácido cumárico. Por último, en los tallos de la *Salvia hispánica* se detectó el contenido más alto de ácido ferúlico (tabla 35 pp.75).

- Ácido rosmarínico

La tabla 24 muestra que se detectó al ácido rosmarínico en las hojas de las siete especies de salvia y que la concentración más alta de este compuesto se presentó en las hojas de la *Salvia officinalis*, seguida de la *Salvia polystachya* (tabla 34 pp.74).

El ácido rosmarínico también se detectó en los tallos de las siete especies de salvia (tabla 24); los tallos de la *Salvia amarissima* y la *Salvia officinalis* presentaron las concentraciones más altas de este compuesto (tabla 35 pp.75).

- Flavonas: luteolina y apigenina

En las hojas de cuatro especies de salvia se detectó luteolina, y en cinco apigenina (tabla 24). Las hojas de la *Salvia sp.* mostraron la mayor concentración en luteolina, y las hojas de la *Salvia cardinalis* en apigenina (tabla 34 pp.74).

En los tallos de una sola especie de salvia se encontró luteolina, y en seis apigenina (tabla 24). La única salvia que mostró luteolina en sus tallos fue la *Salvia amarissima*; y la mayor concentración de apigenina se detectó en la *Salvia polystachya* (tabla 35 pp.75).

- Comparación de compuestos fenólicos entre las salvias mexicanas y la *S. officinalis*

La tabla 24 muestra que en las hojas de la *Salvia officinalis* se detectaron cinco de los siete compuestos fenólicos (ácido caféico, cumárico, ferúlico, rosmarínico y apigenina). Mientras que en las hojas de las especies mexicanas se encontraron entre cuatro y cinco de estos compuestos, a excepción de la *S. mexicana* que sólo presentó a tres. Además, a diferencia de las hojas de la *Salvia officinalis*, las de algunas especies mexicanas mostraron luteolina. Los perfiles de los compuestos fenólicos en las hojas de las salvias mexicanas fueron distintos a los de la *Salvia officinalis* (figuras 25 pp. 71). Aún cuando las hojas de las salvias mexicanas presentaran compuestos fenólicos equivalentes a las de la *S. officinalis*, hubo diferencia en el orden de concentración de los compuestos; por ejemplo, en la tabla 24 se puede observar que las hojas de la *Salvia cardinalis* tienen los mismos

compuestos que las de la *S. officinalis*; sin embargo el orden de concentración de estos compuestos varía en las dos especies de salvia.

Los tallos de la *Salvia officinalis* también presentaron cinco de los siete compuestos fenólicos estudiados (tabla 24); mientras que en los tallos de las especies mexicanas se detectaron entre dos y cinco compuestos. Los tallos de la *Salvia amarissima* mostraron más compuestos fenólicos que en los de las demás especies mexicanas, y sus tallos fueron los únicos en presentar luteolina (tabla 24, figura 26 pp.72).

- Comparación entre los valores de los compuestos fenólicos obtenidos y los reportados

Tabla 25. Comparación entre los intervalos de concentración reportados de varias especies de salvia y los obtenidos en las especies estudiadas (mg/g peso seco)

Compuesto fenólico	Intervalo de valores reportadas	Intervalo de valores obtenidos en hojas	Intervalo de valores obtenidos en tallos
Ácido caféico	0.0012- 0.0204	0.032-0.250 <sub>1</sub>	0.004-0.026
Ácido <i>p</i> - cumárico	0.0012- 0.090	0.016-2.984 <sub>2</sub>	0.013-0.138 <sub>3</sub>
Ácido ferúlico	0.0028- 0.340	0.004-0.023	0.004-0.052
Ácido rosmarínico	0.0052- 14.10	0.212-6.618	0.099-0.891
Luteolina	0.898-1.153	0.014-0.482	0.004
Apigenina	0.543-0.867	0.020-0.601	0.004-0.027

Especies de salvia que se encuentran por encima de intervalo reportado: <sub>1</sub>: *S. officinalis*; <sub>2</sub>: *S. officinalis*, *S. hispánica*, *S. polystachya*; <sub>3</sub>: *S. polystachya*. Intervalo de valores reportados (Orhan et al, 2011; Dincer et al, 2012; Chen et al, 2009; Wang et al, 2003).

En la tabla 25 se muestran los intervalos de concentración de los compuestos fenólicos obtenidos y de los reportados para varias especies de salvia. Los valores reportados incluyen a dieciocho especies de salvia, entre estas se encuentran la *Salvia fruticosa*, *S. miltiorrhiza*, *S. cadmica*, *S. potentillifolia*, *S. ekimiana* y *S. seríceo-tormentosa* (Orhan et al, 2011; Dincer et al, 2012; Chen et al, 2009; Wang et al, 2003).

En las hojas de las salvias estudiadas se observa que el ácido ferúlico, ácido rosmarínico, luteolina y apigenina se ubican dentro o por debajo de los intervalos de concentración reportados; mientras que el ácido caféico y el ácido cumárico presentaron concentraciones superiores a las reportadas (tabla 25).

En los tallos de las especies de salvia estudiadas los compuestos fenólicos se mantuvieron dentro de los intervalos de concentración reportados, con excepción del ácido cumárico que fue ligeramente más alto a lo reportado (tabla 25).

Una explicación del porque algunas especies de salvia tuvieron concentraciones de compuestos fenólicos superiores a las reportadas, es que los valores reportados provienen de muestras que se componen de hojas y tallos; mientras que en nuestro estudio para realizar los análisis se separaron hojas de tallos. Esto tiene mucha influencia en los resultados ya que en la tabla 25 se puede observar que la concentración de los compuestos fenólicos en hojas es mucho mayor que en tallos. Por esta razón, se realizaron promedios entre las concentraciones de los compuestos de hojas y tallos de las especies que presentaron un contenido mayor al reportado para poder hacer una mejor comparación (tabla 26).

*Tabla 26. Promedios entre tallos y hojas de las especies de salvia que se salieron de los rangos de concentración reportados (mg/g peso seco)*

Compuestos	Especie de salvia	Obtenido tallos	Obtenido hojas	Promedio hojas y tallos	Intervalo reportado
Ácido caféico (mg/g peso seco)	<i>S. officinalis</i>	0.250	0.021	0.135	0.0012- 0.0204
Ácido <i>p</i> - cumárico (mg/g peso seco)	<i>S. officinalis</i>	0.147	0.039	0.093	0.0012- 0.090
	<i>S. hispánica</i>	1.502	-	0.751	
	<i>S. polystachya</i>	2.984	0.138	1.561	

Intervalo de valores reportados (Orhan et al, 2011; Dincer et al, 2012; Chen et al, 2009; Wang et al, 2003).

En tabla 26 se observa que el resultado del promedio del ácido caféico entre tallos y hojas de la *Salvia officinalis* se ubicó dentro del intervalo reportado. Sin embargo, los promedios del ácido cumárico en la *Salvia officinalis*, *S. hispánica* y *S. polystachya* permanecieron por encima de los rangos reportados. Esto puede deberse a la diferencia normal que existe entre la composición de distintas especies de salvia, ya que los datos reportados son de diferentes especies a las estudiadas. También es válido mencionar que existen otros factores que afectan la composición y la concentración de compuestos bioactivos en las salvias, como lo son el origen geográfico, la estación climática, las prácticas agrícolas, etc. (Barros y Bragagnolo, 2007); por ello, incluso salvias de la misma especie llegan a presentar diferencias en su composición.

Las hojas y los tallos de las siete especies de salvia presentaron ácido caféico y ácido rosmarínico. Ninguna especie de salvia estudiada mostró ácido sinápico. La presencia y concentración de los demás compuestos fenólicos (ácido cumárico, ácido ferúlico, luteolina, apigenina) varió según el órgano (hoja o tallo) y la especie de salvia analizada. El compuesto fenólico que mostró la más alta concentración en hojas y en tallos de las siete especies de salvia fue el ácido rosmarínico, a excepción de las hojas de la *S. hispánica* donde el compuesto mayoritario fue el ácido cumárico. En todas las especies de salvia reportadas y estudiadas se detectó el ácido rosmarínico (Orhan et al, 2011; Dincer et al, 2012; Chen et al, 2009; Wang et al, 2003; tabla 24 pp. 55)

- **Triterpenoides pentacíclicos**

Tabla 27. Tiempo de retención de los compuestos triterpenicos (estándares sigma)

Estándares	T.R.
Ácido oleanólico	17.85±0.10
Ácido ursólico	18.40±0.17

Columna: ODS HYPERSIL (250×46mm; 5µm), temperatura ambiente, λ: 210nm, flujo: 0.5 ml/min, fase móvil: metanol (A) y ácido fosfórico (0.1%, B), isocrático (A: 90% y B: 10%), tiempo: 25 min.

En la tabla 27 se puede observar que el ácido oleanólico fue el primero en eluir con tiempos de retención de 17.8 minutos, seguido del ácido ursólico con 18.4 minutos. Teniendo los tiempos de retención de estos estándares y habiendo confirmado el orden de elución con lo publicado por Rada et al (2011), se procedió a la identificación de los compuestos triterpenoides en las muestras. Los cromatogramas de las muestras se encuentran en la página 73 (figura 27).

Tabla 28. Contenido de compuestos triterpenicos en las especies de salvia estudiadas

Especie de salvia	Ácido oleanólico (mg/g de planta seca)	Ácido ursólico (mg/g de planta seca)
<b>HOJAS</b>		
<i>S. amarissima</i>	2.716 ± 0.275	2.398 ± 0.245
<i>S. cardinalis</i>	1.010 ± 0.158	2.924 ± 0.255
<i>S. hispánica</i>	1.188 ± 0.046	3.320 ± 0.509
<i>S. mexicana</i>	2.498 ± 0.094	4.974 ± 0.231
<i>S. officinalis</i>	17.300 ± 0.573	27.657 ± 0.708
<i>S. polystachya</i>	2.684 ± 0.209	4.555 ± 0.533
<i>S. sp.</i>	2.282 ± 0.152	2.475 ± 0.234
<b>TALLOS</b>		
<i>S. amarissima</i>	3.604 ± 0.251	5.023 ± 0.639
<i>S. cardinalis</i>	1.913 ± 0.106	5.988 ± 0.653
<i>S. hispánica</i>	1.332 ± 0.250	4.559 ± 0.508
<i>S. mexicana</i>	1.793 ± 0.067	5.408 ± 0.467
<i>S. officinalis</i>	23.210 ± 1.251	42.887 ± 6.815
<i>S. polystachya</i>	4.199 ± 0.077	6.994 ± 0.064
<i>S. sp.</i>	1.719 ± 0.580	3.454 ± 1.360

- Ácido oleanólico y ácido ursólico

En la tabla 28 se muestra que las hojas de las siete especies de salvia presentaron ácido oleanólico y ácido ursólico. Las hojas que mostraron la mayor concentración de ácido oleanólico y ursólico fueron las de la *Salvia officinalis*. Mientras que las hojas de las salvias mexicanas con el contenido más alto de ácido ursólico fueron las de la *Salvia mexicana* y *Salvia polystachya* (tabla 36 pp. 76). En cuanto al ácido oleanólico, las hojas de las especies mexicanas que tuvieron mayor contenido fueron las de la *Salvia amarissima*, *S. polystachya*, *S. mexicana* y la *Salvia sp.*; entre estas especies el contenido de ácido oleanólico no presentó diferencia significativa. (tabla 36 pp. 76).

En los tallos también se encontró que las siete especies de salvia presentaban ácido oleanólico y ursólico (tabla 28). Nuevamente la *Salvia officinalis* mostró la concentración más alta de ambos compuestos sólo que ahora en sus tallos (tabla 37 pp. 76). Entre los tallos de las seis especies de salvia mexicanas, el contenido de ácido ursólico no presentó diferencia significativa; por ello, se considera que este compuesto tiene la misma concentración en las seis especies mexicanas. Los tallos de las salvias mexicanas que obtuvieron el mayor contenido de ácido oleanólico fueron los de la *Salvia polystachya* y *S. amarissima* (tabla 37 pp. 76).

El contenido de ácido ursólico en las siete especies de salvia tanto en hojas como en tallos fue mayor que el del ácido oleanólico; a excepción de las hojas de la *Salvia amarissima*, donde el contenido del ácido oleanólico fue un poco mayor al del ursólico (tabla 28).

- Comparación de compuestos triterpenoides entre salvias mexicanas y la *S. officinalis*

Al comparar el contenido de ácido oleanólico y ursólico entre las especies de salvia mexicanas y la *Salvia officinalis*, se observa que la *S. officinalis* presentó la más alta concentración de ambos compuestos tanto en hojas como en tallos (tabla 28), mostrando una diferencia significativa con respecto a las concentraciones de las especies mexicanas (tabla 36 y 37, pp.76).

- Comparación entre los valores de los compuestos triterpenoides obtenidos y los reportados

Tabla 29. Promedio entre tallos y hojas de la *S. officinalis*, y comparación con los valores reportados de ácido oleanólico y ursólico de la *S. officinalis* (Janicsáck et al, 2005)

Compuesto	Obtenido en los tallos	Obtenido en las hojas	Promedio entre hojas y tallos	Valores Reportados
Ácido oleanólico (% peso seco)	2.321	1.730	2.0255	1.559
Ácido ursólico (% peso seco)	4.289	2.766	3.5275	3.825

En la tabla 29 se muestra que las concentraciones de ácido oleanólico y ácido ursólico obtenidas en las hojas y en los tallos de la *S. officinalis* se encuentran cercanas a los valores reportados para esta misma especie de salvia.

Como se hizo mención en los resultados de los compuestos fenólicos, se vuelve a indicar que las concentraciones reportadas se refieren a muestras preparadas de las partes aéreas de las salvias; es decir, se componen de una mezcla entre hojas y tallos. Por ello, al realizar el promedio entre las hojas y los tallos de las concentraciones de los compuestos de la *S. officinalis* estudiada, se observa que los valores están aún más cercanos a los que se reportan (tabla 29).

Tabla 30. Comparación entre los resultados obtenidos de las especies mexicanas y los intervalos reportados del contenido de ácido oleanólico y ursólico de varias especies de salvia (Janicsáck et al, 2005).

<i>Triterpenoides pentacíclicos</i>	<i>Intervalos reportados de varias especies de salvia</i>	<i>Intervalos obtenidos en las hojas de las especies mexicanas</i>	<i>Intervalos obtenidos en los tallos de las especies mexicanas</i>
Ácido oleanólico (% peso seco)	0.017-1.840	0.101-0.272	0.133-0.420
Ácido ursólico (% peso seco)	0.054- 4.019	0.240-0.497	0.345-0.699

Salvias mexicanas: *S. cardinalis*, *S. polystachya*, *S. amarissima*, *S. hispánica*, *S. mexicana*, *S. sp.*

En la tabla 30 se observa que las concentraciones de las hojas y de los tallos en las seis especies mexicanas se ubican dentro de los intervalos reportados. Los valores reportados incluyen a treinta y cinco especies de salvia, entre estas se encuentran la *Salvia austriaca*, *S. deserta*, *S. candidissima*, *S. lavandulifolia*, *S. nemorosa*, *S. officinalis*, *S. sclarea*, etc. En todas las especies de salvia reportadas y estudiadas se presentó a los ácidos oleanólico y ursólico (Janicsáck et al, 2005; tabla 28 pp. 60).

El ácido oleanólico y el ácido ursólico se detectaron en las siete especies de salvia. El contenido de ácido ursólico tanto en hojas como en tallos fue mayor que el del ácido oleanólico; con excepción de las hojas de la *Salvia amarissima*.

## 5. CONCLUSIONES

Las especies de salvia mexicanas que se seleccionaron para realizar los análisis cualitativos y cuantitativos, fueron la *Salvia amarissima*, *Salvia cardinalis*, *Salvia hispánica*, *Salvia mexicana*, *Salvia polystachya* y la *Salvia sp.*

- En los extractos de metanol-cloroformo (1:1) de las hojas de las siete especies de salvia se identificaron mediante cromatografía en capa fina (CCF) a los ácidos caféico, rosmarínico, ursólico/oleanólico y a la  $\alpha$ -amirina.
- En hoja y tallos de las siete especies de salvia se identificaron y cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) a los ácidos rosmarínico, caféico, ursólico y oleanólico.
- En algunas de las especies de salvia también se detectaron mediante HPLC al ácido cumárico, ácido ferúlico, luteolina y apigenina. Ninguna especie mostró al ácido sinápico.
- El compuesto fenólico mayoritario en tallos y en hojas de las siete especies de salvia fue el ácido rosmarínico, a excepción de las hojas de la *S. hispánica* donde el compuesto mayoritario fue el ácido cumárico.
- El contenido de ácido ursólico en las siete especies de salvia fue superior al del ácido oleanólico, a excepción de las hojas de la *Salvia amarissima*.
- Los ácidos rosmarínico, oleanólico y ursólico además de estar presentes en todas las salvias estudiadas, se encuentran en todas las especies de salvia reportadas.

Las especies de salvia mexicanas presentaron varios compuestos bioactivos equivalentes a los de la *Salvia officinalis*. En la *Salvia officinalis* y en la mayoría de las especies de salvia mexicanas se encontraron a los siguientes compuestos: ácido oleanólico, ácido ursólico, ácido caféico, ácido cumárico (principalmente en hojas), ácido rosmarínico, apigenina y luteolina; esta última se detectó principalmente en hojas y no se encontró en la *Salvia officinalis*.

## **6. PERSPECTIVAS**

- Continuar con el estudio de los compuestos triterpenoides y fenólicos minoritarios en las especies de salvia mexicanas.
- Realizar un análisis del perfil de los aceites esenciales de las especies de salvia mexicanas, para tener un conocimiento más amplio sobre su composición y el aporte que estas dan a los alimentos, como en aroma y en sabor.

## 7. ANEXO

### 7.1 Pruebas de Múltiples Rangos para rendimientos de extracción

Tabla 31. Pruebas de Múltiple Rangos (Método: 95.0 porcentaje Duncan) para rendimientos de extracción en la *S. polystachya* usando distintos disolventes

	Grupos Homogéneos
Acetato de etilo	X
Acetona	X
Metanol-cloroformo (1:1)	X
Metanol	X

Se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's

Tabla 32. Pruebas de Múltiple Rangos (Método: 95.0 porcentaje Duncan) para los rendimientos de extracción de las hojas usando metanol-cloroformo (1:1) como disolvente

	Media (%)	Grupos Homogéneos
<i>S. cardinalis</i>	9.38	X
<i>S. amarissima</i>	9.92	XX
<i>S. mexicana</i>	10.19	XX
<i>S. sp.</i>	10.22	XX
<i>S. polystachya</i>	10.69	X
<i>S. hispánica</i>	11.41	X
<i>S. officinalis</i>	16.52	X

Se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

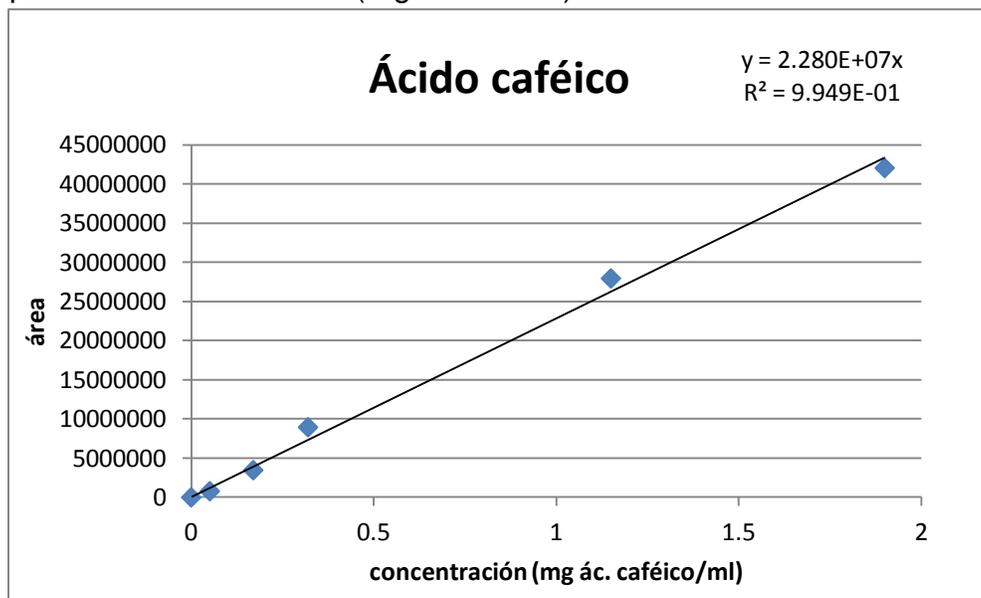
Tabla 33. Pruebas de Múltiple Rangos (Método: 95.0 porcentaje Duncan) para rendimientos de extracción de los tallos de las salvias usando metanol-cloroformo (1:1) como disolvente.

	Media (%)	Grupos Homogéneos
<i>S. mexicana</i>	2.55	X
<i>S. cardinalis</i>	2.69	X
<i>S. amarissima</i>	2.83	X
<i>S. sp.</i>	4.23	X
<i>S. polystachya</i>	5.02	X
<i>S. hispánica</i>	5.47	X
<i>S. officinalis</i>	6.92	X

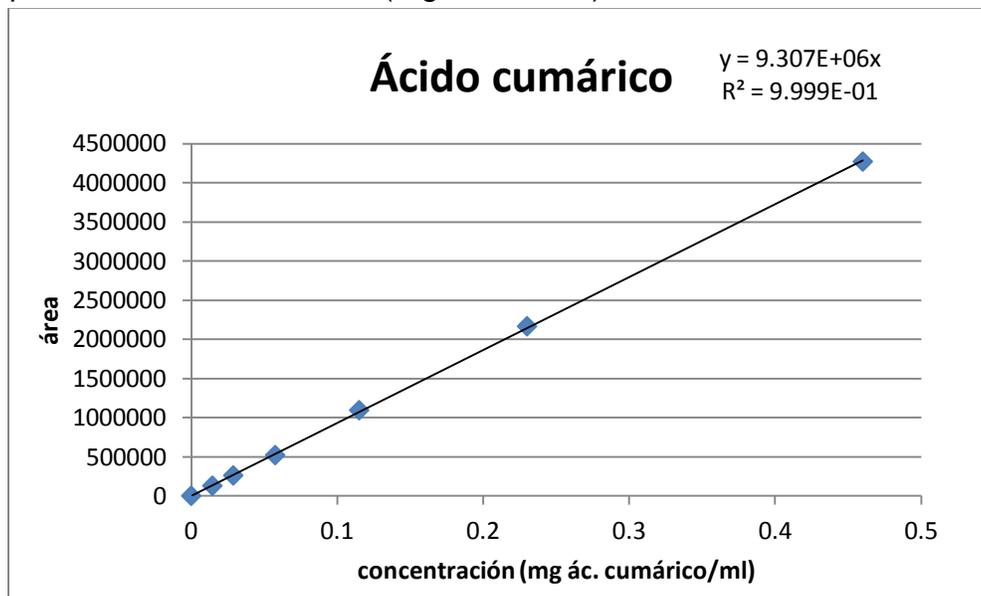
Se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

## 7.2 Curvas patrón para la cuantificación por HPLC

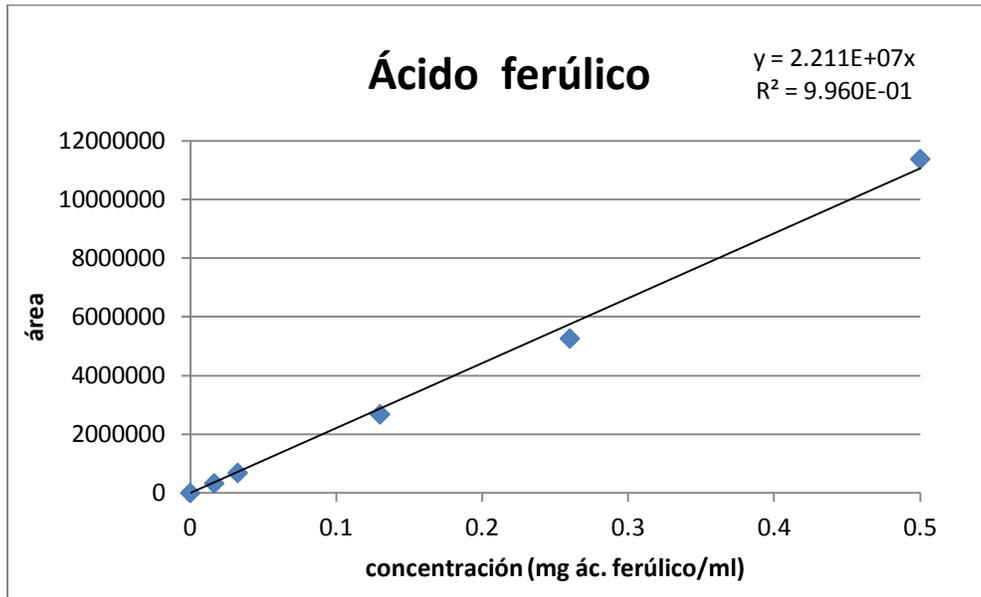
Curva patrón del ácido caféico (Sigma-Aldrich)



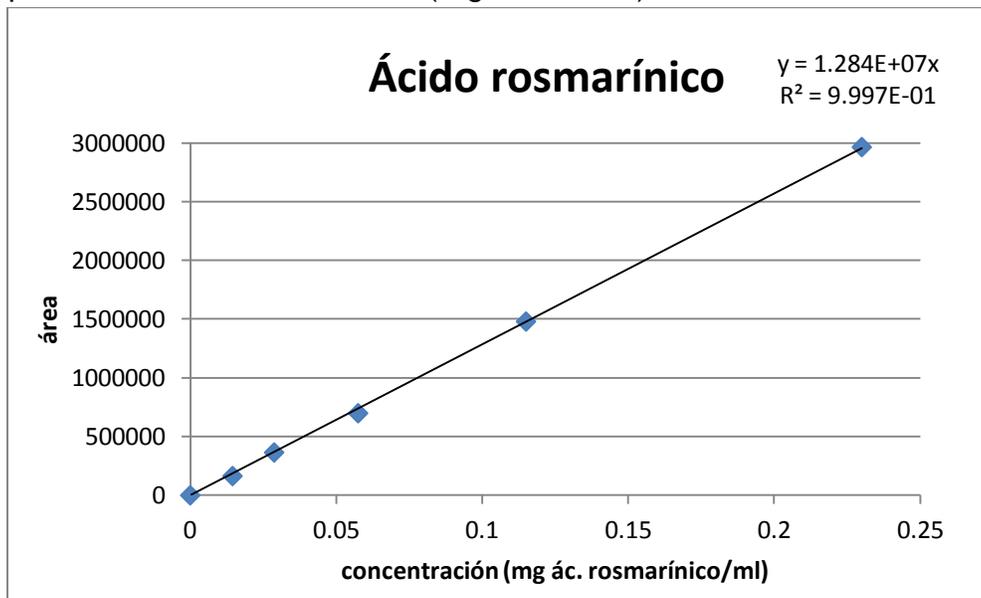
Curva patrón del ácido cumárico (Sigma-Aldrich)



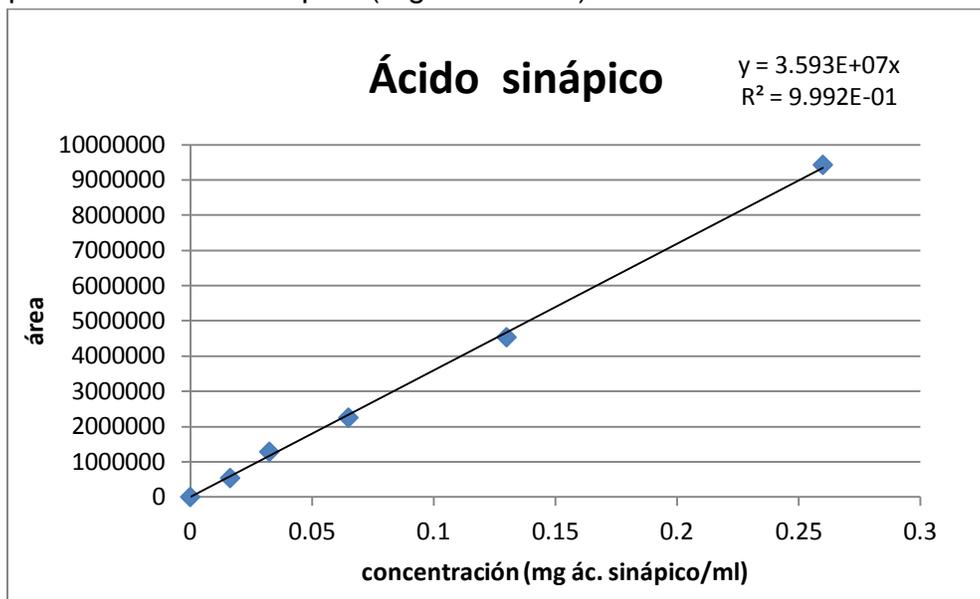
Curva patrón del ácido ferúlico (Sigma-Aldrich)



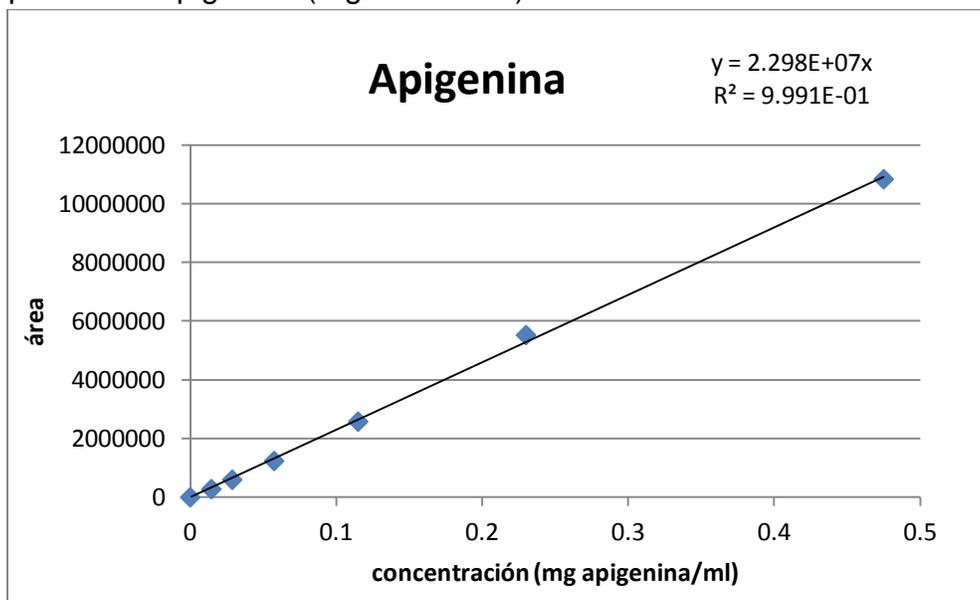
Curva patrón del ácido rosmarínico (Sigma-Aldrich)



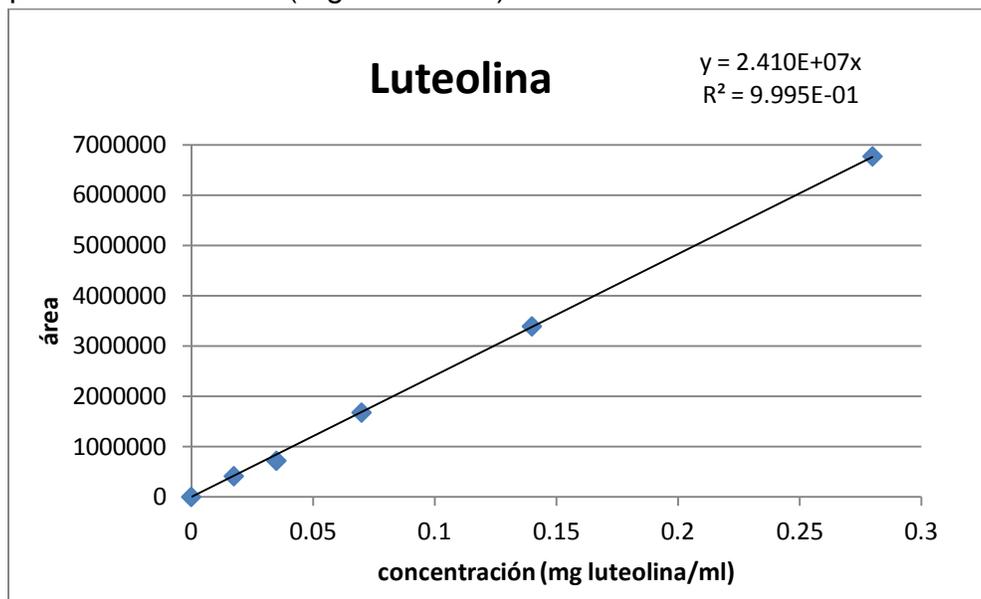
Curva patrón del ácido sinápico (Sigma-Aldrich)



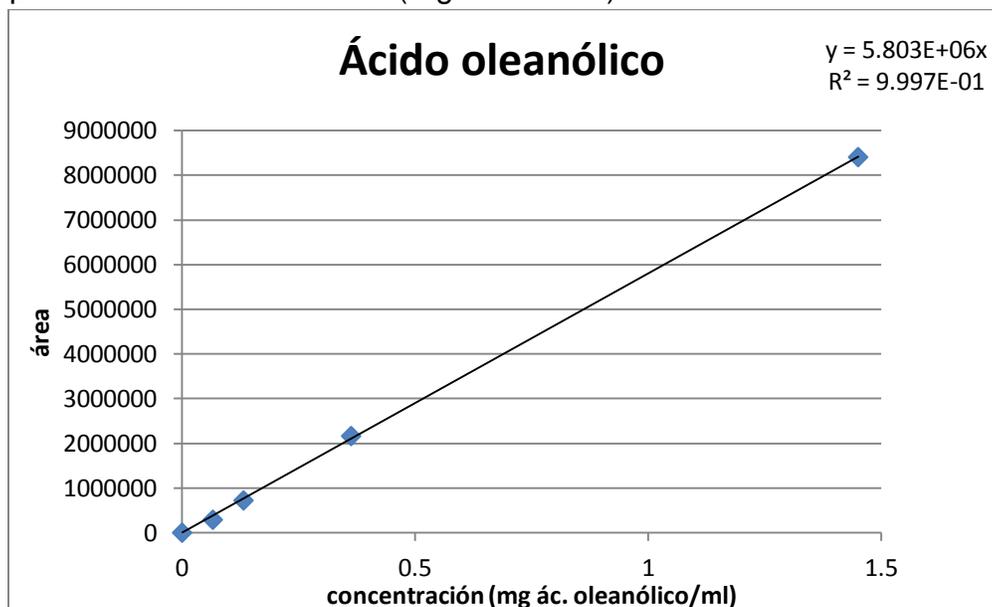
Curva patrón del apigenina (Sigma-Aldrich)



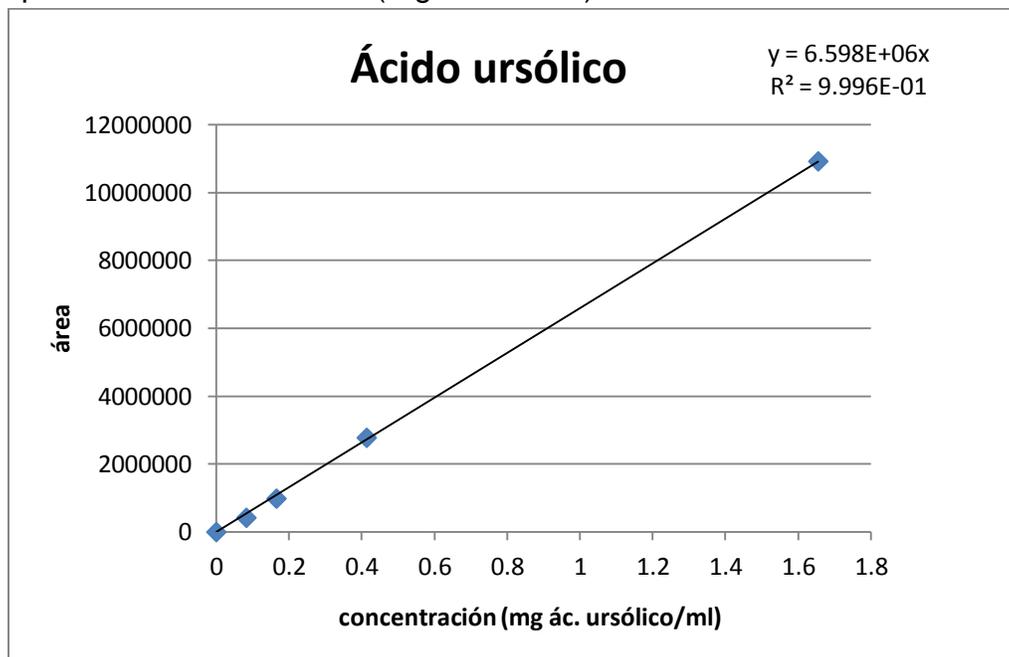
Curva patrón del luteolina (Sigma-Aldrich)



Curva patrón del ácido oleanólico (Sigma-Aldrich)



Curva patrón del ácido ursólico (Sigma-Aldrich)



### 7.3 Cromatogramas

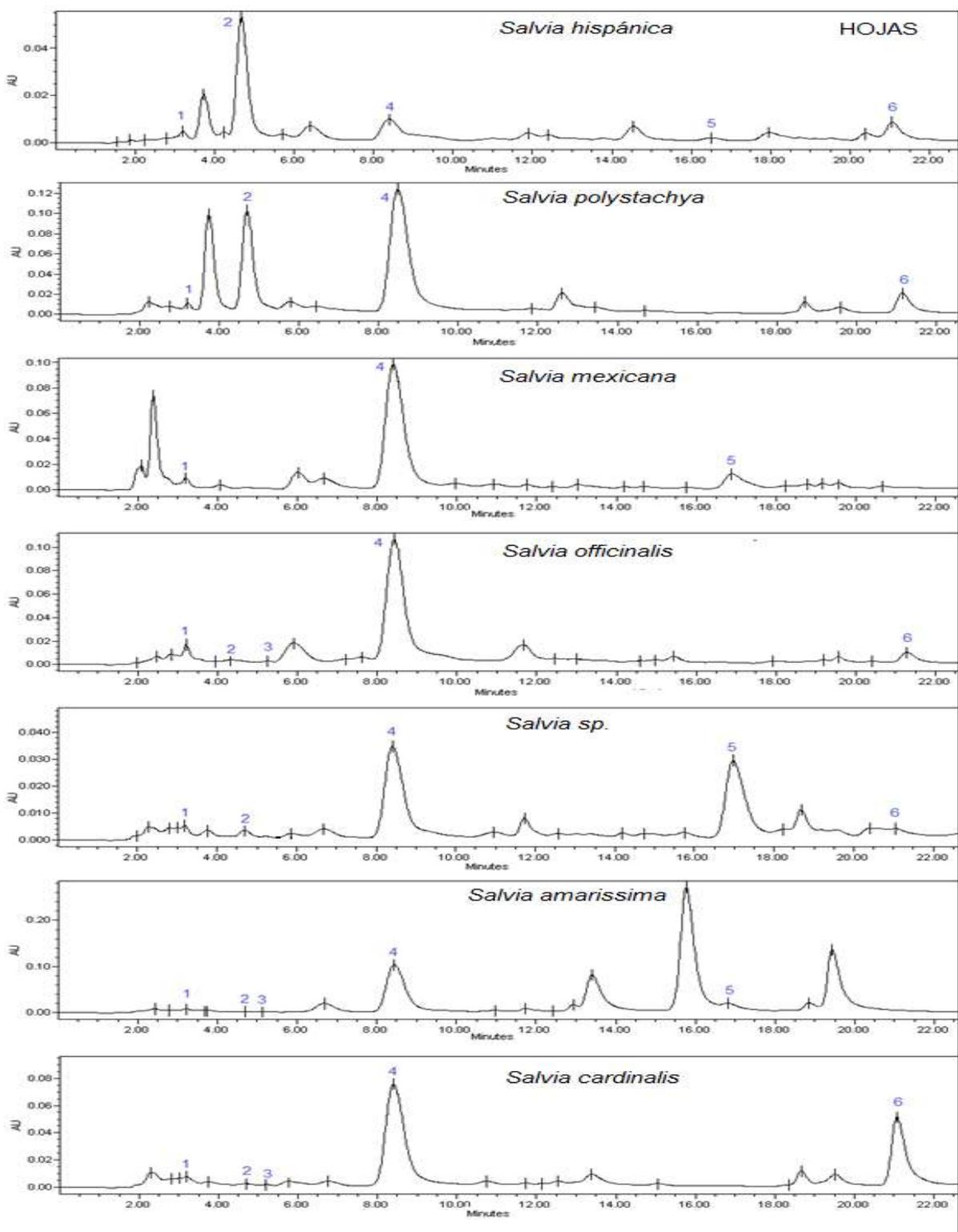


Figura 25. Cromatogramas de los compuestos fenólicos de las hojas en las especies de salvias. 1: ácido caféico; 2: ácido cumárico; 3: ácido ferúlico; 4: ácido rosmarínico; 5: luteolina; 6: apigenina.

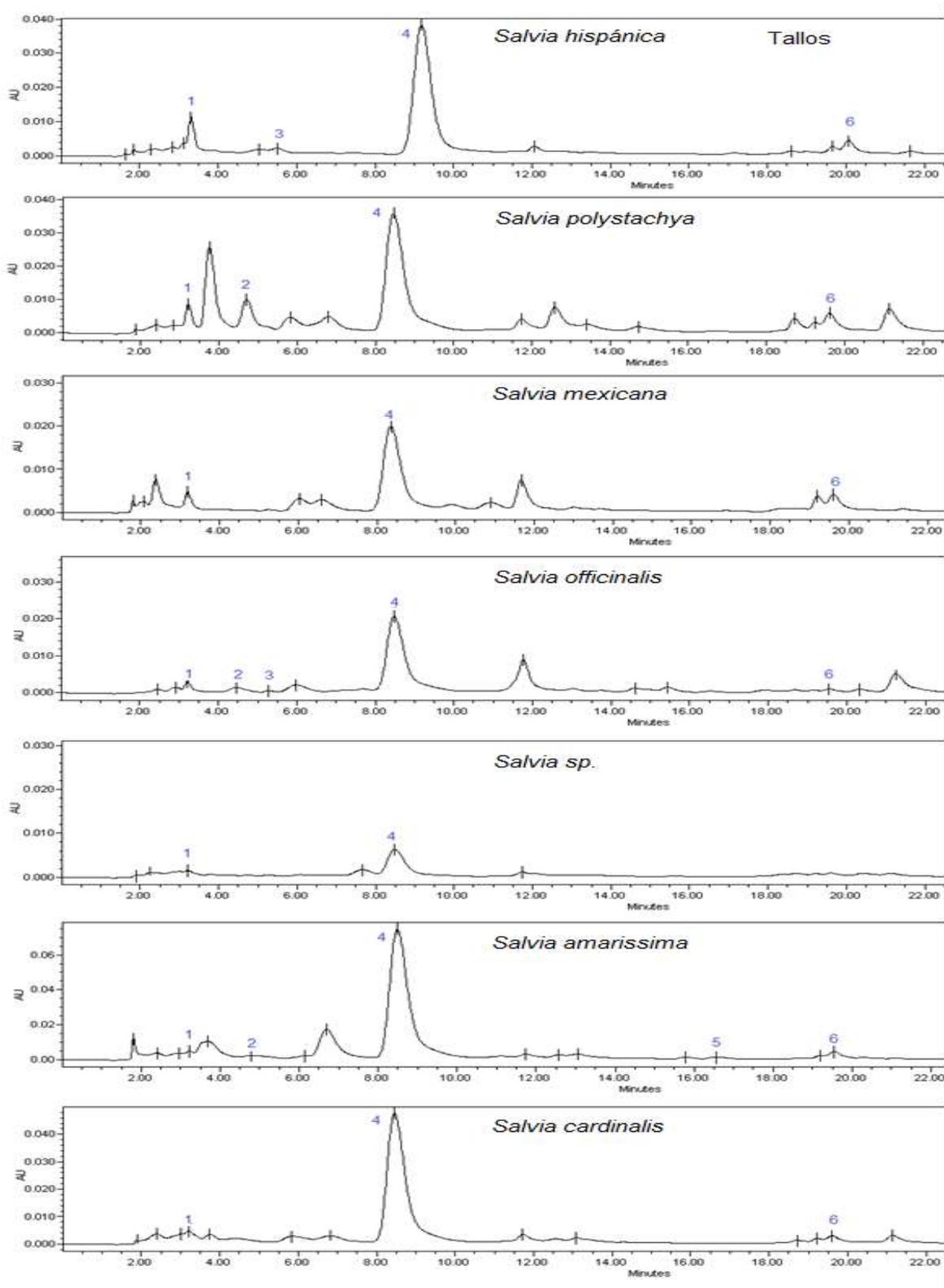


Figura 26. Cromatogramas de los compuestos fenólicos de los tallos en las especies de salvias. 1: ácido caféico; 2: ácido cumárico; 3: ácido ferúlico; 4: ácido rosmarínico; 5: luteolina; 6: apigenina.

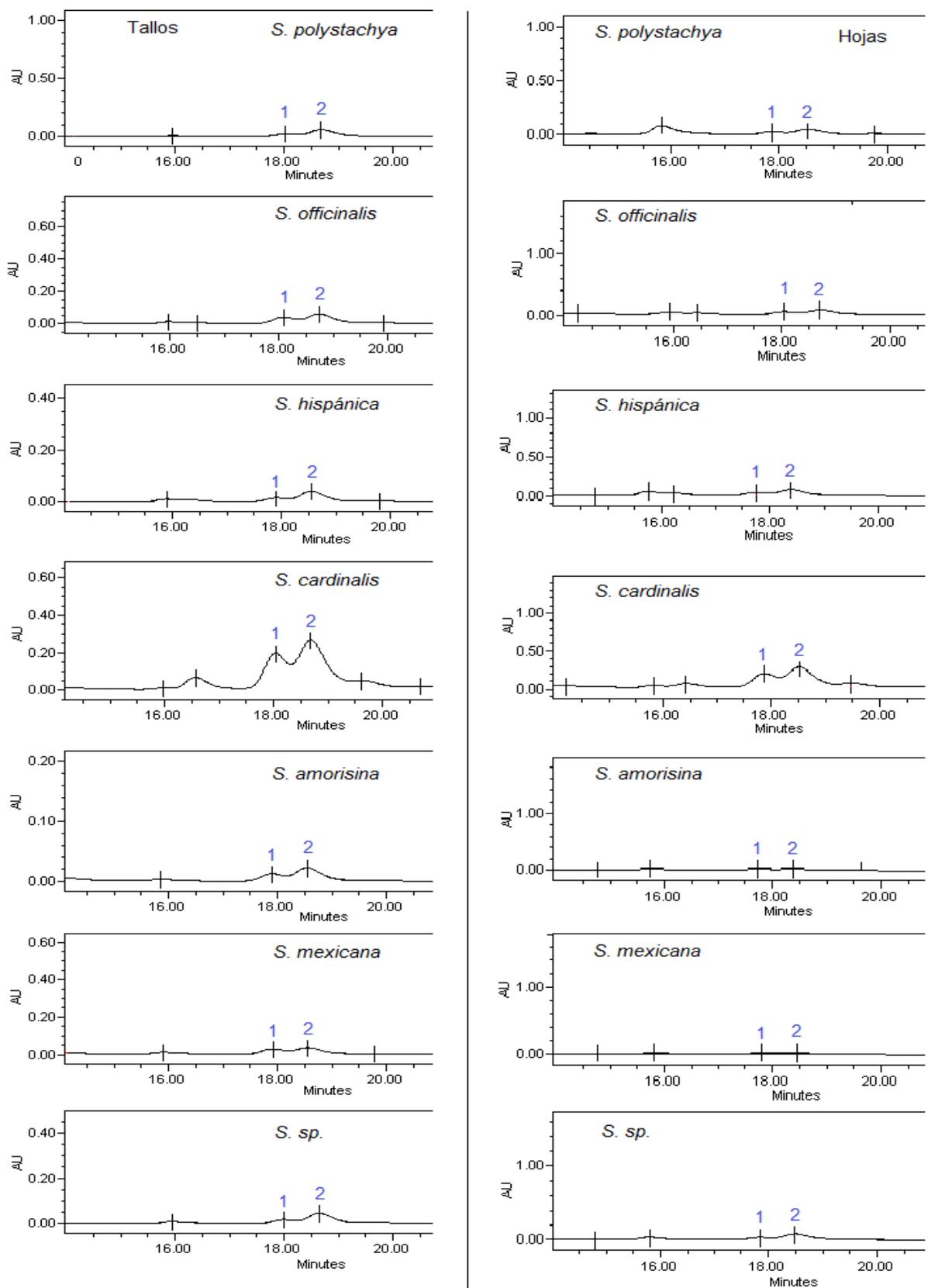


Figura 27. Cromatogramas de los compuestos triterpenicos de los tallos y de las hojas en las especies de salvias. 1: ácido oleanólico; 2: ácido ursólico.

#### 7.4 Pruebas de Múltiple Rangos para compuestos bioactivos

Tabla 34. Pruebas de Múltiple Rangos (Método: 95.0 porcentaje Duncan) para el contenido de los compuestos fenólicos en las hojas de las salvias (mg/g de planta seca).

<b>Ácido caféico (ACA)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. sp.</i>	0.032	X
<i>S. hispánica</i>	0.040	XX
<i>S. amarissima</i>	0.053	X
<i>S. mexicana</i>	0.054	X
<i>S. cardinalis</i>	0.056	X
<i>S. polystachya</i>	0.077	X
<i>S. officinalis</i>	0.250	X
<b>Ácido cumárico (ACU)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. cardinalis</i>	0.016	X
<i>S. amarissima</i>	0.024	X
<i>S. sp.</i>	0.051	X
<i>S. officinalis</i>	0.147	X
<i>S. hispánica</i>	1.502	X
<i>S. polystachya</i>	2.984	X
<b>Ácido ferúlico (AF)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. cardinalis</i>	0.004	X
<i>S. amarissima</i>	0.021	X
<i>S. officinalis</i>	0.023	X
<b>Ácido rosmarínico (AR)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. hispánica</i>	0.212	X
<i>S. sp.</i>	1.065	X
<i>S. mexicana</i>	2.108	X
<i>S. cardinalis</i>	2.168	X
<i>S. amarissima</i>	3.272	X
<i>S. polystachya</i>	4.425	X
<i>S. officinalis</i>	6.618	X
<b>Luteolina (L)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. hispánica</i>	0.014	X
<i>S. amarissima</i>	0.172	X
<i>S. mexicana</i>	0.224	X
<i>S. sp.</i>	0.482	X
<b>Apigenina (A)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. sp.</i>	0.020	X
<i>S. hispánica</i>	0.092	X
<i>S. officinalis</i>	0.202	X
<i>S. polystachya</i>	0.300	X
<i>S. cardinalis</i>	0.601	X

No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's

Tabla 35. Pruebas de Múltiple Rangos (Método: 95.0 porcentaje Duncan) para el contenido de los compuestos fenólicos en los tallos de las salvias (mg/g de planta seca).

<b>Ácido caféico (ACA)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. amarissima</i>	0.004	X
<i>S. sp.</i>	0.004	X
<i>S. mexicana</i>	0.009	X
<i>S. cardinalis</i>	0.015	X
<i>S. officinalis</i>	0.021	X
<i>S. hispánica</i>	0.025	X
<i>S. polystachya</i>	0.026	X
<b>Ácido cumárico (ACU)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. amarissima</i>	0.013	X
<i>S. officinalis</i>	0.039	X
<i>S. polystachya</i>	0.138	X
<b>Ácido ferúlico (AF)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. officinalis</i>	0.004	X
<i>S. hispánica</i>	0.052	X
<b>Ácido rosmarínico (AR)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. sp.</i>	0.099	X
<i>S. mexicana</i>	0.254	X
<i>S. hispánica</i>	0.468	X
<i>S. cardinales</i>	0.639	X
<i>S. polystachya</i>	0.756	X
<i>S. officinalis</i>	0.880	X
<i>S. amarissima</i>	0.891	X
<b>Luteolina (L)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. amarissima</i>	0.004	Único detectado
<b>Apigenina (A)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. officinalis</i>	0.004	X
<i>S. cardinales</i>	0.006	X
<i>S. mexicana</i>	0.013	X
<i>S. hispánica</i>	0.016	X
<i>S. amarissima</i>	0.018	X
<i>S. polystachya</i>	0.027	X

No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's

Tabla 36. Pruebas de Múltiple Rangos (Método: 95.0 porcentaje Duncan) para el contenido de los compuestos triterpenicos en las hojas de las salvias (mg/g de planta seca).

<b>Ácido oleanólico (AO)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. cardinalis</i>	1.00965	X
<i>S. hispánica</i>	1.18785	X
<i>S. sp.</i>	2.28214	X
<i>S. mexicana</i>	2.49634	X
<i>S. polystachya</i>	2.68357	X
<i>S. amarissima</i>	2.71647	X
<i>S. officinalis</i>	17.3001	X
<b>Ácido ursólico (AU)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. amarissima</i>	2.39807	X
<i>S. sp.</i>	2.4748	X
<i>S. cardinalis</i>	2.92401	X
<i>S. hispánica</i>	3.31992	X
<i>S. polystachya</i>	4.55505	X
<i>S. mexicana</i>	4.97419	X
<i>S. officinalis</i>	27.6566	X

No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's

Tabla 37. Pruebas de Múltiple Rangos (Método: 95.0 porcentaje Duncan) para el contenido de los compuestos triterpenicos en los tallos de las salvias (mg/g de planta seca).

<b>Ácido oleanólico (AO)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. hispánica</i>	1.3324	X
<i>S. sp.</i>	1.71856	X
<i>S. mexicana</i>	1.79268	X
<i>S. cardinalis</i>	1.91345	X
<i>S. amarissima</i>	3.60366	X
<i>S. polystachya</i>	4.19891	X
<i>S. officinalis</i>	23.2101	X
<b>Ácido ursólico (AU)</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>S. sp.</i>	3.45387	X
<i>S. hispánica</i>	4.5585	X
<i>S. amarissima</i>	5.02304	X
<i>S. mexicana</i>	5.40844	X
<i>S. cardinalis</i>	5.98825	X
<i>S. polystachya</i>	6.99358	X
<i>S. officinalis</i>	42.8871	X

No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adzet, T., Cañigüeral, S., Iglesias, J., 1988. A chromatographic survey of polyphenols from *Salvia* Species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 16, pp. 29-32.

Acero O., C. A., 2006. Antimicrobianos naturales: cómo la naturaleza nos protege de los microorganismos. *Hospitalidad ESDAI*, 9.

Ah Y., S., Kyung I., N., Joo J., Y., Chan Y., D., Hawan J., K., Seon L., I., 2008. Radical scavenging and inhibition of platelet function by polyphenol-rich fraction from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *The Open Natural Products Journal*, 1, pp. 7-13.

Aydoğmuş, Z., Yeşilyurt, V., Topcu, G., 2006. Constituents of *Salvia microphylla*. *Natural Product Research*, 20, pp. 775-781.

Barros M., L. R. y Bragagnolo N., 2007. Natural Antioxidants from the Lamiaceae Family. Application in Food Products. *Brazilian Journal of Food Technology*, 10, pp. 96-103.

Bentham, G., 1876. Labiatae. *In Genera Plantarum*, vol. 2, G. Bentham y J. D. Hooker (eds.). Reeve, London, pp. 1160-1196.

Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009. Disponible web: <<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7513>> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

Cahill, J.P., 2003. Ethnobotany of Chia, *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). *Economic Botany*, 57, pp. 604-618.

Carey, F. A., 2003. *Química orgánica*. Sexta edición. México: McGraw-Hill/Interamericana.

Carranza, G. E. 2005a. Vegetación. *In* La biodiversidad en Michoacán: estudio de estado, G. L. E. Villaseñor (ed.) Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Secretaría de Urbanismo y Medio Ambiente, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México, D. F. pp. 38-45.

Chemical Book, 2008. Disponible web: <[http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB6281061.htm](http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB6281061.htm)> [Último acceso: 5 de febrero de 2013].

Chen, H., Zhang, Q., Wang, X., Yang, J., Wang, Q., 2009. Qualitative Analysis and Simultaneous Quantification of Phenolic Compounds in Aerial Part of *Salvia miltiorrhiza* by HPLC-DAD and ESI/MS<sup>n</sup>. *Phytochemical Analysis*, 22, pp. 247-257.

CONABIO, 2012. Disponible web: <<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/lamiaceae/salvia-mexicana/fichas/ficha.htm#1.%20Nombres>> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

CSIC: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2010. Disponible web: <[http://digital.csic.es/bitstream/10261/28540/1/2341635\\_A1.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/28540/1/2341635_A1.pdf)> [Último acceso: 5 de febrero de 2013].

Cornejo T., G, Ibarra M., G., 2011. Diversidad y distribución del género *Salvia* (Lamiaceae) en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82, pp. 1279-1296.

Dávila, A. P., Villaseñor, R. J. L., Medina, L. R., Ramírez, R. A., Salinas, T. A., Sánchez-Ken, J., Tenorio, L. P., 1993. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Instituto de Biología, UNAM, México, D. F., pp. 195.

Dincer, C., Topuz, A., Sahin N., H., Suntan O., K., Burak C., I., Tontul, I., Suleyman G., R., Tugrul A., S., 2012. A comparative study on phenolic composition, antioxidante activity and essential oil content of wild and cultivated sage (*Salvia fruticosa* Miller). *Industrial Crops and Products*, 39, pp. 170-176.

Dieringer, G., Ramamoorthy, T. P., Tenorio, L. P, 1991. Floral visitors and their behavior to sympatric *Salvia* species (Lamiaceae) in Mexico. *Acta Botanica Mexicana*, 13, pp. 75-83.

Drago, M.E., López M., Sainz, M. del R., 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37, pp. 58-68.

- Epling, C., 1938. The Californian salvias. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 25, pp. 95-188.
- Epling, C., 1939. A revision of *Salvia* subgenus *Calosphace*. *Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetalis*, 110, pp. 1-383.
- Espejo, S. A. y Ramamoorthy, T. P., 1993. Revisión taxonómica de *Salvia* sección *Sigmoideae* (Lamiaceae). *Acta Botanica Mexicana*, 23, pp. 65-102.
- Farimani, M. M., Moghaddam, F. M., Esmaeili, M. A., Amin, G., 2011. A lupane triterpenoid and other constituents of *Salvia eremophila*. *Natural Product Research*, 26 (21), pp. 2045-2049.
- Fernández, N. R., Rodríguez, J. C., Arreguín, S. M. L., Rodríguez, J. A., 1998. Listado florístico de la cuenca del río Balsas, México. *Polibotánica*, 9, pp.1-151.
- Figueredo, G., Chalchat, J.C., Chalard, P., Özcan, M.M., Al Juhaimi, F.Y., 2012. The effect of harvest periods on the chemical compositions of essential oils of sage (*Salvia aucheri* L.) leaves. *Natural Product Research*, 26 (19), pp. 1852-1856.
- Garbolino, E., 1998. SOPHY: Banque de données Botaniques et Ecologiques, (A.I.A.B.). Disponible en Web: <<http://sophy.u-3mrs.fr/photohtm/HI566.HTM>> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].
- Gohari, A.R., Saeidnia, S., Malmir, M., Hadjiakhoondi, A., Ajani, Y., 2010. Flavones and rosmarinic acid from *Salvia limbata*. *Natural Product Research*, 24, pp. 1902-1906.
- Gonzalez, A. G., Fraga, B.M., Ravelo, A.G., 1972. Components of Labiatae. Components of *Salvia broussonetti* Benth. *Anales de Quimica*, 68, pp. 1433-1436.
- Herraiz, D., Usano, J., Cuadrado, J., Jordan, M.J., Lax, V., Sotomayor, J.A., Palá, J., 2010. Essential oil composition of wild populations of *Salvia lavandulifolia* Vahl. From Castilla-La Mancha (Spain). *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, pp. 1224-1230.

Hirasa, K. y Mitsuo, T., 2002. *Ciencia y Tecnología de las especias*. Zaragoza: Acribia.

Hoskovec, M. y Rejzek, M., 1997. Cerambycidae. Disponible Web: <<http://www.cerambyx.uochb.cz/salvhypo.htm>> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

Janicsák, G., Veres, K., Kakasy, A.Z., Máthé, I., 2005. Study of the oleanolic and ursolic acid contents of some species of the Lamiaceae. *Biochemical systematic and ecology*, 34, pp. 392-396.

Jiménez F., E., Hernández B., F., González C., M., 2010. Antihypertensive activity of *Salvia elegans* Vahl. (Lamiaceae): ACE inhibition and angiotensin II antagonism. *Journal of Eynopharmacology*, 130, pp. 340-346.

Jianq, R.W., Lau, K.M., Hon, P.M, Mak, T.C., Woo, K. S., Fung, K.P., 2005. Chemistry and biological activities of caffeic acid derivatives from *Salvia miltiorrhiza*. *Current Medicinal Chemistry*, 12, pp. 237-246.

Kaefer, C.M. y Milner, J.A., 2007. The role of herbs and spices in cancer prevention. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 19, pp. 347-361.

Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., Steenkamp, P., 2010. Antioxidant, anti-inflammatory activities and HPLA analysis of South African *Salvia* species. *Food Chemistry*, 119, pp. 684-688.

Kintzios, S. E., 2000. *SAGE, The Genus Salvia*. Amsterdam: Hardwood Academic Publishers.

Kuźma, Ł., Skrzypeck Z., Wysokińska H., 2005. Diterpenoids and triterpenoids on hairy roots of *Salvia sclarea*. *Tissieue and Organ Culture*, 84, pp. 171-179.

Lampe, J.W. y Milner, J.A., 2003. Spicing up a vegetarian diet: chemopreventive effects of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, pp. 79-83.

Lázaro, M.L., 2009. Distribution and Biological Activities of the Flavonoid Luteolin. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 9, pp. 31-59.

Les senteurs du Quercy. Disponible Web: <[http://www.senteursduquercy.com/senteursduquercy/1151/boutique/48857/salvia\\_dichroantha.htm](http://www.senteursduquercy.com/senteursduquercy/1151/boutique/48857/salvia_dichroantha.htm)> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

Lin, Y., Shi, R., Wang, X., Shen, H.M., 2009. Luteolin, a flavonoid with potentials for cancer prevention and therapy. *Curr Cancer Drug Targets*, 8(7), pp. 634-646.

López, C.E., Sánchez, M.G., Arrieta, D, Román, J. H., 2010. Estudio preliminar fitoquímico y de la actividad antimicrobiana de *Salvia amarissima* Ort. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria*, año 9, n° 9, diciembre 2010.

Lu, Y., Foo L. Y., 2002. Polyphenolics of *Salvia*-a review. *Phytochemistry*, 59, pp. 117-140.

Luteolin, 2009. Disponible web: <<http://www.luteolin.com/apigenin.html>> [Último acceso: 5 de febrero de 2013].

Mander, L. y Wen L., H., 2010. *Comprehensive natural products II: chemistry and biology*. Amsterdam: Elsevier.

Manjarréz, R., Frontana, B.A., Cárdenas, J., 2003. Estudio fitoquímico de *Salvia uruapana*. *Revista de la Sociedad Química de México*, 47, pp. 207-209.

Marques, M. J., 1991. *Probabilidad y estadística para ciencias químico-biológicas*. México: McGraw-Hill, pp. 381-384.

Medina, I., Undeland, I., Larsson, K., Storro, I., Rustad, T., Jacobsen, C., Kristinová, V., Gallardo, J.M., 2011. Activity of caffeic acid in different fish lipid matrices: A review. *Food Chemistry*, 131, pp. 730-740.

Middleton, R., 1990. Robin's Salvias. Disponible en Web: <<http://www.robinssalvias.com/index.html>> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

National Toxicology Program (NTP), 2012. Disponible web: <[http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/Chem\\_Background/ExSumPdf/Apigenin.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/Chem_Background/ExSumPdf/Apigenin.pdf)> [Último acceso: 5 de febrero de 2013].

Nikolova, M. T., Grayer, R. J., Genova, E., Porter, E. A., 2006. Exudate flavonoids from Bulgarian species of *Salvia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, pp. 360-364.

Orhan, I.E., Senol, F.S., Ozturk, N., Akaydin, G., Sener, B., 2011. Profiling of *in vitro* neurobiological effects and phenolic acids of selected endemic *Salvia* species. *Food Chemistry*, 132 (3), pp. 1360-1367.

Ortega, A., Bautista, E., Maldonado, E., 2006. Polystachyne F, a 5, 10-secoclerodane from *Salvia polystachya*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54, pp. 1338-1339.

Ortega, A., Cárdenas, J., Toscano, A., Maldonado, E., Aumelas, A., 1991. salviandulines A and B. Two secoclerodane diterpenoids from *Salvias lavanduloides*. *Phytochemistry*, 30, pp. 3357-3360.

O'Neil, M. J., 2006. *The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biological*. 14th ed. New Jersey: Merck.

Perhill Nurseries. Disponible Web: <[http://www.perhillplants.co.uk/shop/index.php?main\\_page=product\\_info&products\\_id=1017](http://www.perhillplants.co.uk/shop/index.php?main_page=product_info&products_id=1017)> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

Petersen, M. y Simmonds, M.S.J., 2002. Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62, pp. 121-125.

Phytochemicals. Disponible web: <<http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/ferulic-acid.php>> [Último acceso: 5 de febrero de 2013].

PlantZAfrica, South African National Biodiversity Institute. Disponible web: <<http://www.plantzafrica.com/medmonographs/salviaafriclut.pdf>> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

Psaroudakis, B. y Sorensen, J., 1994. Wild herbs of crete. Disponible en Web: <[http://quickbooker.org/kunden/wildherbsofcrete\\_com/pages/portraits-of-our-essential-oils-from-wild-herbs-of-crete/salvia-triloba.php](http://quickbooker.org/kunden/wildherbsofcrete_com/pages/portraits-of-our-essential-oils-from-wild-herbs-of-crete/salvia-triloba.php)> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

Rada, M., Ruiz G., V., Guinda, Á., 2011. Determination of Triterpenic Acids in Human Serum by High-Performance Liquid Chromatography: Triterpenoid Interaction with Serum Protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, pp. 2308-2313.

Ramamoorthy, T. P. 1984. Notes on *Salvia* (Labiatae) in Mexico, with three new species. *Journal of the Arnold Arboretum*, 65, pp. 135-143.

Ramamoorthy, T. P. y Elliott, M., 1998. Lamiaceae de México: diversidad, distribución, endemismo y evolución. In *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución*, T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.). Instituto de Biología, UNAM, México, D. F., pp. 501-526.

Ramamoorthy, T. P. y Lorence, D. H., 1987. Species vicariance in the Mexican flora and description of a new species of *Salvia* (Lamiaceae). *Bulletin du Musée National d' Histoire Naturelle Paris*, 4. *Adansonia*, 2, pp. 167- 175.

René M., B.A. y Frontana U., J.C., 2003. Estudio fitoquímico de salvia uruapana. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 47, pp. 207-209

Rodríguez S., E. N., 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhaj*, 7, pp. 153-170.

Rodríguez, L. S. y Espinosa, G. J., 1996. Listado florístico del estado de Michoacán. Sección III (Angiospermae: Connaraceae- Myrtaceae, excepto Fagaceae, Gramineae, Krameriaceae y Leguminosae). *Flora del Bajío y de*

*Regiones Adyacentes*. Fascículo Complementario X. Instituto de Ecología, Pátzcuaro, Michoacán. 296 pp.

Sabinsa Corporation, 2000. Disponible web: <<http://www.ursolicacid.com/botanical.htm>> [Último acceso: 5 de febrero de 2013].

Sharma, P., 2011. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(2), pp. 403-423.

Société Française d'Ethnopharmacologie, 2010. Disponible web: <<http://www.ethnopharmacologia.org/default.asp?page=prelude2008&action=preludePays&med=h&pays=Afrique%20du%20Sud%20%28Lesotho%29>> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

Sutton, J., 1999. The gardener's guide to growing salvias. Timber, Portland, Oregon, pp. 160.

Topçu, G., 2006. Bioactive Triterpenoids from *Salvia* Species. *Journal of Natural Products*, 69, pp. 482-487.

UPCommons, Universitat Politècnica de Catalunya, 2002. Disponible web: <[http://upcommons.upc.edu/pfc/bitstream/2099.1/10677/1/PFC\\_VOL\\_I.pdf](http://upcommons.upc.edu/pfc/bitstream/2099.1/10677/1/PFC_VOL_I.pdf)> [Último acceso: 5 de febrero de 2013].

Vermerris, W. y Nicholson, R., 2008. *Phenolic compound biochemistry*. Dordrecht: Springer.

Walker, J. B. y Elisens, W. J., 2001. A revision of *Salvia* section *Heterosphace* (Lamiaceae) in Western North America. *Sida*, 19, pp. 571-589.

Walker, J. B., Sytsma, K. J., Treutlein J., Wink, M., 2004. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91, pp. 1115-1125.

Wang, H., Provan, G.J., Helliwell, K., 2003. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. *Food Chemistry*, 87, pp. 307-311.

Yoji's Salvia Garden, 2000. Disponible Web: <<http://homepage2.nifty.com/~yoji/salvias/stenophylla.html>> [Último acceso: 4 de febrero de 2013].

Zhou, C., Zhang, Y., Sheng, Y., Zhao, D., Lv, S., Hu, Y., Tao, J., 2011. Herbaceous Peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) as an Alternative Source of Oleanolic and Ursolic Acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, pp. 655-667.