



Determinación estructural de flavonas presentes en el extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. “Cordón”

Bonilla Rivera Pablo Enrique ¹; Fernández Rebaza Gustavo Adolfo ¹; Toche Tuesta Analucía¹; Rayme Gutierrez Robert Leonardo ¹; Curioso Melo Dara Edith ¹; Venegas Fiestas Gerardo Antonio ¹; Suarez Santa Cruz Kevin Angel ¹; Mamani Herrera Leslie Karina ¹

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 18/07/2019
Aprobado: 06/09/2019

Autor corresponsal

Gustavo Adolfo Fernández Rebaza
gustav.unmsm@gmail.com
991895544

Financiamiento

Autofinanciado

Contribución de autores

Intervinieron en la concepción y diseño del artículo, recolección de datos, análisis e interpretación de datos, redacción del artículo; revisión crítica del artículo y aprobación de la versión final.

Conflictos de interés

Ninguno

Citar como

Bonilla Rivera PE; Fernández Rebaza GA; Toche Tuesta A; Rayme Gutierrez RL; Curioso Melo DE; Venegas Fiestas GA; Suarez Santa Cruz KA; Mamani Herrera LK. Determinación estructural de flavonas presentes en el extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. “Cordón”. Rev Peru Med Integrativa.2019;4(3):90-5.

Resumen

Objetivo. Determinar la estructura química de flavonas aisladas del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. “Cordón”, mediante comparación con lo publicado por TJ Mabry. **Materiales y métodos.** Se elaboró extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. “Cordón”. Se determinó su solubilidad en solventes de polaridad creciente. Se detectaron los componentes químicos utilizando tricloruro férrico, reactivo de Shinoda, gelatina, entre otros reactivos cromogénicos. Se realizó cromatografía en capa fina y por espectroscopía UV/VIS se propusieron estructuras químicas para los metabolitos tipo flavonas presentes en el extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. “Cordón”. **Resultados.** El extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. “Cordón” fue soluble en solventes de mediana polaridad. Los metabolitos secundarios encontrados fueron flavonoides, taninos y alcaloides. Se propusieron estructuras químicas de flavonas a través del análisis de los espectros UV/Vis, y por comparación con tablas publicadas en la literatura. **Conclusiones.** Se determinaron nueve estructuras químicas de metabolitos secundarios tipo flavonas del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. “Cordón” mediante comparación con lo publicado por TJ Mabry.

Palabras clave: *Marrubium vulgare* L.; Tamizaje fitoquímico; Cromatografía; Espectroscopia UV/Vis; Flavonas (Fuente: DeCS)

Structural determination of flavones presents in the methanolic extract of leaves of *Marrubium vulgare* L. “Cordón”

Abstract

Objective. Determine the chemical structure of flavones isolated from the methanolic extract of *Marrubium vulgare* L. “Cordón” leaves by comparison with that published by TJ Mabry. **Materials and methods.** Methanolic leaf extract of *Marrubium vulgare* L. “Cordón” was prepared. Its solubility in solvents of increasing polarity was determined. The chemical components were detected using ferric trichloride, Shinoda reagent, gelatin, among other chromogenic reagents. Thin layer chromatography was performed and by UV / VIS spectroscopy chemical structures were proposed for flavone metabolites present in the methanolic leaf extract of *Marrubium vulgare* L. “Cordón”. **Results.** The methanolic extract of *Marrubium vulgare* L. “Cordón” leaves was soluble in medium polarity solvents. The secondary metabolites found were flavonoids, tannins and alkaloids. Chemical structures of flavones were proposed through the analysis of the UV / Vis spectra, and by comparison with tables published in the literature. **Conclusion.** Nine chemical structures of flavone secondary metabolites of the methanolic leaf extract of *Marrubium vulgare* L. “Cordón” were determined by comparison with that published by TJ Mabry.

Keywords: *Marrubium vulgare* L., Phytochemical screening, Chromatography, UV/Vis spectroscopy, Flavones (Source: MeSH)

¹ Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.

Introducción

Las prácticas de medicina complementaria son utilizadas y difundidas a través de la cultura popular, donde se enfocan en el empleo de plantas medicinales, las cuales fueron consideradas como el principal recurso terapéutico para conservar la salud de las personas ⁽¹⁾. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha insistido en que el uso de estas especies vegetales puede ser de gran aplicación en la atención primaria de los sistemas de salud, pero sobre bases científicas que sustenten seguridad, efectividad y calidad requeridas para administración en humanos ⁽²⁾.

En el Perú, *Marrubium vulgare* L. "Cordón" forma parte de la flora silvestre de regiones como Cajamarca, La Libertad, Ancash y Junín, aunque se reporta su origen africano ⁽³⁾. Los estudios realizados previamente en esta especie resaltan su actividad hipoglucémica, antihipertensiva, analgésica, anticancerígena, entre otras ⁽⁴⁾, las cuales se deben a su compleja composición fitoquímica: lactona marrubina, flavonoides, diterpenoides, antocianinas, etc. ⁽⁵⁾.

El presente estudio busca determinar la estructura química de flavonas aisladas del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón", mediante comparación con lo publicado por TJ Mabry.

Materiales y métodos

Descripción botánica de la especie

Planta leñosa, de olor a tomillo, de 30 a 80 cm de alto, con numerosos tallos cuadrados, simples o un poco ramificados; hojas redondeadas sostenidas por un corto pecíolo opuesto, festoneadas en los bordes, con la nervadura en redécilla. Las flores blancas se aglomeran en gran número en las axilas de las hojas superiores, en ramilletes opuestos a las axilas foliares, tienen el cáliz tubuloso y estriado con un número variable de dientes, de cinco a diez, terminados en una puntita o espinita en forma de gancho en el extremo. La corola es bilabiada. Toda la planta tiene color blanquecino por su abundante vellosidad y despiden un olor característico ⁽⁶⁾ (Figura 1).



Figura 1. Muestra de *Marrubium vulgare* L. "Cordón"

Preparación del extracto metanólico

Las hojas fueron recolectadas en la localidad de Santiago de Chuco, ubicada a 165 km al este de la ciudad de Trujillo, capital del departamento de La Libertad. Esta localidad se encuentra a una altitud de 3120 m, la identificación taxonómica se hizo en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Posteriormente, se seleccionaron las hojas de las muestras en buen estado, las cuales fueron limpiadas y secadas a temperatura ambiente. Seguidamente, se secaron en una estufa (40 °C) y se realizó la reducción de tamaño del material vegetal. Finalmente, las hojas trituradas fueron almacenadas de acuerdo a lo descrito por Lock *et al.* ⁽⁷⁾ y se procedió a la elaboración del extracto de acuerdo a la Figura 2.



Figura 2. Elaboración del extracto (10 días). Maceración (7 días); Filtración (1 día); Secado (3 días)

Ensayo de solubilidad

El extracto metanólico se trató con solventes de polaridad creciente ⁽⁷⁾ (Tabla 1).

Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico consistió en un conjunto de reacciones de coloración y precipitación que se realizó para detectar los componentes químicos⁽⁷⁾ del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón". (Tabla 2).

Cromatografía de capa fina

Se realizó cromatografía en capa fina analítica y preparativa del extracto metanólico de hojas, donde se sembró la muestra del extracto y luego se desarrolló con el sistema de solventes cloroformo: metanol (2:1). Se reveló la cromatopla de silicagel 60-G con lámpara de luz UV a longitud de onda de 365 nm.

Determinación de estructuras químicas

Luego de realizar la cromatografía se procedió a la desorción de las manchas correspondientes. Estas fueron leídas en el espectrofotómetro UV/vis Thermo scientific GENESYS 10S⁽⁷⁾.

Las estructuras químicas de flavonas aisladas del extracto metanólico de las hojas se proponen mediante lecturas al espectrofotómetro y fueron comparadas con las estructuras publicadas por TJ Mabry (1970)⁽⁸⁾.

Resultados

El extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón" fue soluble en solventes de mediana polaridad (Tabla 1 y Figura 3).

Tabla 1. Solubilidad del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón"

Solventes	Resultados
Agua	+
Metanol	+++
Etanol	+
n-butanol	+++
Acetato de etilo	+++
Acetona	+++
Diclorometano	+++
n-hexano	+

+++ : soluble; ++ : parcialmente soluble; + : poco soluble; - : insoluble

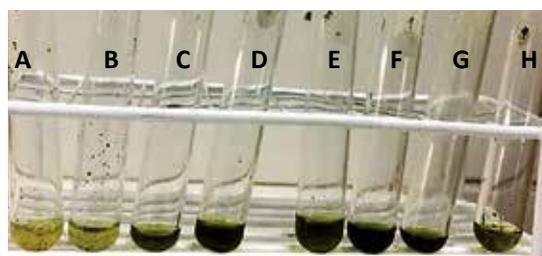


Figura 3. Resultados del ensayo de solubilidad del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón". A) Agua. B) Etanol. C) Metanol. D) n-Butanol. E) Acetato de etilo. F) Acetona. G) Diclorometano. H) n-Hexano.

Al realizar el tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón", se encontraron compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides y taninos (Tabla 2 y Figura 4).

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón"

Metabolito	Reacción	Cantidad
Carbohidratos	Rx. Molisch	++
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	++
Taninos	Gelatina	+++
Flavonoides	Rx. Shinoda	++
Aminoácidos libres y grupos amino	Ninhidrina	-
Alcaloides	Rx. Dragendorff	++
	Rx. Mayer	+
Naftaquinonas, antroquinonas y antronas	Rx. Bortrager	-

+++ : Abundante; ++ : regular; + : poco; - : ausencia



Figura 4. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón". A) Blanco. B) Gelatina. C) Ninhidrina. D) FeCl₃. E) Rx. Mayer. F) Rx. Dragendorff. G) Rx. Bortrager. H) Rx. Shinoda. I) Rx. Molisch.

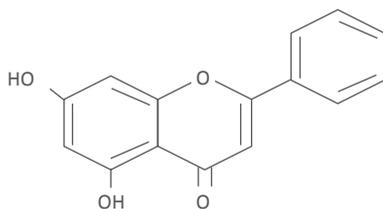
Al realizar la cromatografía en capa fina a escala preparativa, utilizando el sistema cloroformo: metanol (2:1) y revelado con lámpara de luz UV a longitudes de onda de 365 nm y 254 nm, se visualizaron diferentes manchas, determinándose el factor de retención en cada una (Figura 5).



Figura 5. Cromatografía en capa fina del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón" revelado con lámpara de luz UV a longitudes de onda de 365 nm y 254 nm

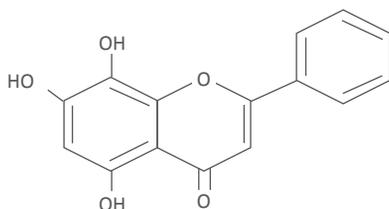
Se proponen las estructuras químicas de flavonas del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón" en la Figura 6.

M 1 λ EtoH
máx 269,314 nm, Rf=0,03



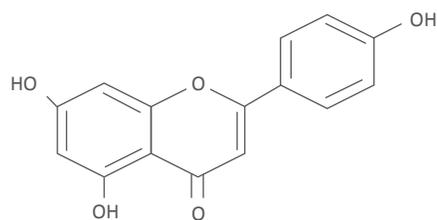
5,7 - dihidroxiflavona

M 2 λ EtoH
máx 280,320nm, Rf=0,07



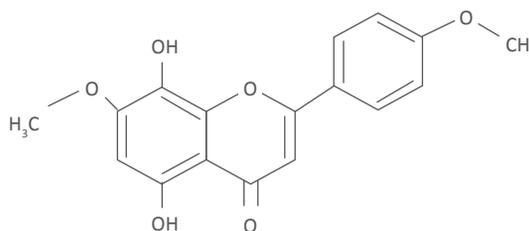
5,7,8 - trihidroxiflavona

M 3 λ EtoH
máx 270, 330 nm, Rf=0,21



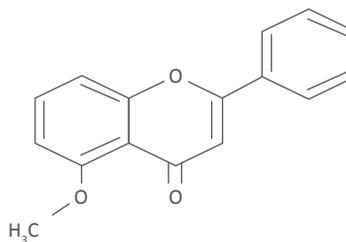
4',5,7- trihidroxiflavona (Apigenina)

M 4 λ EtoH
máx 279, 330 nm, Rf=0,25



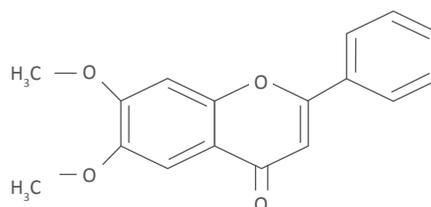
5,8 – dihidroxi - 4',7 - dimetoxiflavona

M 5 λ EtoH
máx 263, 303 nm, Rf=0,396



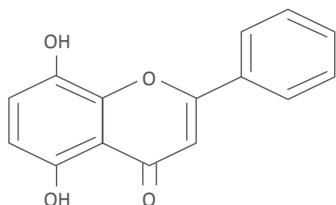
5 - metoxiflavona

M 6 λ EtoH
máx 263, 305 nm, Rf=0,692



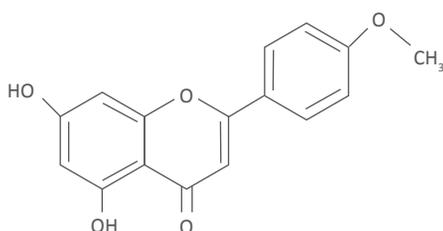
6,7 - dimetoxiflavona

M 7 λ ^{EtoH}
máx 271, 305 nm, Rf=0,76



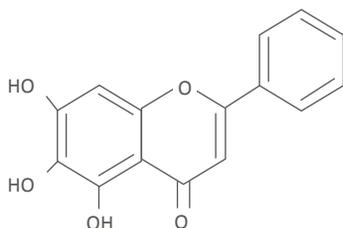
5,8 - dihidroxiflavona

M 8 λ ^{EtoH}
máx 270, 318 nm, Rf=0,81



5,7 - dihidroxi - 4' - metoxiflavona (Acacetina)

M 9 λ ^{EtoH}
máx 274, 320 nm, Rf=0,92



5,6,7 – trihidroxiflavona (Baicaleína)

Figura 6. Estructuras químicas de flavonas propuestas del extracto metanólico de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón"

Discusión

El extracto metanólico de *Marrubium vulgare* L. "Cordón", fue soluble en solventes de mediana polaridad y menos soluble en solventes polares. Además, en un estudio realizado por Stanković en *Marrubium vulgare* ⁽⁹⁾, se determinó un mayor rendimiento del extracto en metanol, ello concuerda con las estructuras elucidadas ya que presentan grupos funcionales hidroxilo, carbonilo y éter, lo

que le permite formar enlaces puentes de hidrógeno y ser soluble en solventes de polaridad media.

Los resultados del tamizaje fitoquímico sugieren la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, taninos y alcaloides, además de la posibilidad de metabolitos glicosilados. En Argelia ^(10,11) e Irán ⁽¹²⁾ los análisis fitoquímicos de hojas de *Marrubium vulgare* L. "Cordón" confirman la buena extracción con metanol de compuestos fenólicos, especialmente flavonoides y taninos sin dejar de lado la presencia de alcaloides y saponinas. La elección del solvente y del método es un factor crítico para la extracción de metabolitos puesto que los estudios reportan una menor concentración de flavonoides y taninos en extractos de acetona y una extracción, principalmente de flavonoides, por infusión ⁽¹⁰⁻¹¹⁾. Además, otras especies del género *Marrubium* son conocidas también por el alto contenido de compuestos fenólicos, así como de metabolitos glicosilados ^(9,13,14).

Los espectros UV de la muestra sugieren ser en su mayoría flavonas hidroxiladas y metoxiladas. La propuesta más interesante es la presencia de baicaleína (5,6,7 trihidroxiflavona) debido a las diversas propiedades que han sido estudiadas como efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antivirales y antitumorales ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Asimismo, otra estructura de importancia es la acetetina (5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavona) que presenta efecto antiinflamatorio ⁽¹⁸⁾ y causa suprarregulación significativa de Fas (FasL también llamado CD95/Apo1L) y activa a las caspasas ⁽¹⁹⁾.

La presente investigación aporta impulsar hacia la investigación preclínica, sin embargo, no está exento de limitaciones. El método de extracción es todavía empírico, más se puede utilizar métodos mucho más específicos.

Asimismo, se recomienda aportar con más estudios de elucidación estructural de los componentes para complementar los estudios farmacológicos y toxicológicos del presente extracto.

En conclusión, se determinaron nueve estructuras químicas de flavonas presentes en el extracto metanólico de hojas *Marrubium vulgare* L. "Cordón" mediante comparación con lo publicado por TJ Mabry : 5,7 – dihidroxiflavona; 5,7,8 – trihidroxiflavona; 4',5,7 – trihidroxiflavona (Apigenina); 5,8 – dihidroxi - 4',7 – dimetoxiflavona; 5 – metoxiflavona; 6,7- dimetoxiflavona; 5,8 dihidroxiflavona; 5,7 – dihidroxi – 4' - metoxiflavona (Acacetina) y 5,6,7 – trihidroxiflavona (Baicaleína)

Agradecimientos

A Ariana Yasmeen Yui Góngora, Kelly Yataco Arias y Víctor Anderson Acuña Guzmán por su colaboración en la realización del proyecto.

Referencias bibliográficas

1. Badke M, Budó M, Alvim N, Zanetti G, Heisler E. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. Rev. Texto Contexto Enferm, Florianópolis. 2012; 21(2): 363-370.
2. OMS. Estrategia de la OMS sobre Medicina Tradicional 2002-2005. Ginebra; 2002.
3. Mostacero J, Castillo F, Mejía F, Gamarra O, Charcape J, Ramírez R. Plantas Medicinales del Perú – Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. Trujillo: Asamblea Nacional de Rectores; 2011.
4. Masoodi MH. Recent developments in phytochemical and pharmacological studies of *Marrubium vulgare* L. J Pharm Res. 2011; 10: 124–129.
5. Henderson MS, Mccrindle R. Premarrubiin. A diterpenoid from *Marrubium vulgare* L. J Chem Soc C Org. 1969; 2(15): 2014–2015.
6. Haiek G, Tillett S. El Jardín Medicinal de la Revista Marrubio *Marrubium vulgare* L. Rev de la Facultad de Farmacia. 2004; 67(2): 39-40.
7. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2.ª ed. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994. 98-102 p.
8. The Systematic Identification of Flavonoids | Tom Mabry | Springer [Internet]. [citado 4 de octubre de 2019]. Disponible en: [//www.springer.com/gp/book/9783642884603](http://www.springer.com/gp/book/9783642884603).
9. Stankovic MS. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. Kragujevac J. Sci. 2011;33(11):63-72.
10. Amessis-Ouchemoukh N, Abu-Reidah IM, Quirantes-Piné R, Madani K, Segura-Carretero A. Phytochemical profiling, in vitro evaluation of total phenolic contents and antioxidant properties of *Marrubium vulgare* (horehound) leaves of plants growing in Algeria. Industrial Crops and Products. 2014; 61: 120–129.
11. Boudjelal A, Henchiri C, Siracusa L, Sari M, Ruberto G. Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. Fitoterapia. 2012; 83(2): 286–292.
12. Mojab F, Kamalinejad M, Ghaderi N, Reza Vahidipour H. Phytochemical Screening of Some Species of Iranian Plants. IJPR. 2003; 2: 77-82.
13. Karioti A, Skaltsa H, Heilmann J, Sticher O. Acylated flavonoid and phenylethanoid glycosides from *Marrubium velutinum*. Phytochemistry, 2003; 64(2): 655–660.
14. Rigano D, Formisano C, Basile A, Lavitola A, Senatore F, Rosselli S, Bruno M. Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum* sp. libanoticum. Phytotherapy Research. 2007; 21(4): 395–397.
15. Liu H *et al.* The Fascinating Effects of Baicalein on Cancer: A Review. Int. J. Mol. Sci. 2016; 17(10): 1681.
16. Gao Y, Snyder SA, Smith JN, *et al.* Med Chem Res, 2016; 25: 1515.
17. Yu Huang, Suk-Ying Tsang, Xiaoqiang Yao and Zhen-Yu Chen, "Biological Properties of Baicalein in Cardiovascular System", Current Drug Targets - Cardiovascular & Hematological Disorders. 2005; 5: 177.
18. Stangaciu S. Composición y propiedades del propoleos. Rumania: Apiacta XXXIII: 1998. 71 – 77p.
19. Flores-Balcázar C, Rosales-Pérez S, Caro-Sánchez CHS, Gallardo-Alvarado L, Gordillo-Bastidas D. Nutrientes de la Dieta y Apoptosis como Mecanismos Reguladores del Cáncer. iMedPub Journals. 2015; 11(2): 1-8.