



Caracterización de compuestos fenólicos presentes en el extracto etanólico de hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz, "lancetilla"

Arellano Quintanilla Joselyn Mishell¹, Ariza Alva Alberto Alan¹, Ávila Rodríguez Melanie Abril¹, Campbell Sánchez Christhy Massiell¹, Quispe Mallqui Lino Ronaldo¹, Luna Minuche Carla Isabel¹, Osorio Ruiz Sebastián Aurelio¹, Fernández Rebaza Gustavo Adolfo¹, Bonilla Rivera Pablo Enrique¹

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 28/08/2017

Aprobado: 20/09/2017

Autor corresponsal

Gustavo Adolfo Fernández

Rebaza

gustav.unmsm@gmail.com

+511991895544

Conflicto de interés

Ninguno

Financiamiento

Autofinanciado

Citar como

Arellano Quintanilla JM, Ariza Alva AA, Ávila Rodríguez MA, Campbell Sánchez CM, Quispe Mallqui LR, Luna Minuche CI, et al. Caracterización de compuestos fenólicos presentes en el extracto etanólico de hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz, "lancetilla". Rev Peru Med Integrativa.2017;2(3):773-8.

Resumen

Objetivos. Caracterizar compuestos fenólicos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla". **Materiales y métodos.** Se preparó un extracto etanólico de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla". Se evaluó la solubilidad del extracto en solventes de polaridad creciente. Se detectaron los componentes químicos del extracto etanólico mediante un tamizaje fitoquímico empleando gelatina, tricloruro férrico, reacción de Shinoda, entre otros. Se realizó cromatografía en capa fina, desorción y propuesta de estructuras químicas para los metabolitos tipo flavonoides presentes en el extracto etanólico de hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla" mediante espectroscopía UV-Vis. **Resultados.** El extracto etanólico presentó mejor solubilidad en solventes de mediana polaridad. El tamizaje fitoquímico dio resultados positivos para presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y glicósidos. Se propuso la estructura química de siete flavonas en el extracto investigado. **Conclusiones.** Se caracterizó y propuso las estructuras de compuestos fenólicos tipo flavonas en el extracto etanólico de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla".

Palabras clave: *Alternanthera lanceolata*, flavonas, tamizaje, cromatografía, espectroscopía UV-Vis (Fuente: DeCS).

Characterization of phenolic compounds present in the ethanolic extract of leaves of *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz, "lancetilla"

Abstract

Objectives. To characterize some phenolic compounds that are present in an ethanolic extract of the leaves of *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "Lancetilla". **Materials and methods.** The solubility of the extract in solvents with increasing polarity was evaluated. The chemical components of ethanolic extract were detected through phytochemical screening using gelatin, ferric trichloride, shinoda reaction, among others. Thin layer chromatography, desorption and proposal of chemical structures for the flavonoid metabolites present in *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "Lancetilla" ethanolic extract were determined using UV-Vis spectroscopy. **Results.** The ethanolic extract showed better solubility in solvents of medium polarity. Phytochemical screening gave positive results for the presence of phenolic compounds, flavonoids and glycosides. The chemical structure of 7 flavones in the investigated extract is proposed. **Conclusions.** The structures of flavone-type phenolic compounds of the ethanolic extract of the leaves of *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "Lancetilla" were characterized and proposed.

Keywords: *Alternanthera lanceolata*, flavones, screening, chromatography, UV-Vis spectroscopy (Source: MeSH).

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

Introducción

Uno de los principales problemas de investigación en el Perú es la falta de estudios científicos sobre las diversas especies de flora y fauna que existen en su territorio ⁽¹⁾.

La *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz, también conocida como *Brandesia lanceolata* Benth o comúnmente conocida como lancetilla, discancer grande o simplemente discancer, es una especie tradicionalmente usada en los andes del norte del Perú vía oral como relajante y antiinflamatorio (nervios, dolor de cabeza, preocupación, etc.) y en vía tópica para casos de insolación ⁽²⁾.

Esta especie está distribuida en países de Centroamérica y Sudamérica como Colombia, Ecuador, Perú, Guatemala o Costa Rica con preferencia por los hábitats de bosques de niebla entre 1000 y 2200 m de altitud ⁽³⁾.

Alternanthera lanceolata (Benth.) Schinz, pertenece a la familia Amaranthaceae también es conocida por que varios de sus géneros contienen fenoles, esteroides, flavonoides, alcaloides y sesquiterpenlactonas, ⁽⁴⁾ por lo que a otras especies pertenecientes a esta familia se les han reconocido capacidades analgésicas ⁽⁵⁾, antioxidantes ⁽⁶⁾, inmunomoduladoras ⁽⁷⁾ y antimaláricas ⁽⁸⁾.

En este último punto es donde se ha investigado más sobre las propiedades medicinales de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz. Mesa *et al.*, encontraron que el extracto etanólico de partes aéreas de esta especie y dos fracciones derivadas mostraron una actividad antimalárica (contra *Plasmodium falciparum*) significativa ⁽⁸⁾. De forma similar, Pabón *et al.*, sugieren que esta actividad podría deberse a los hallazgos en la marcha fitoquímica de taninos, alcaloides, flavonoides, glicósidos y esteroides ⁽⁹⁾.

Por otro lado, Ramos realizó análisis fitoquímicos preliminares de una muestra de las partes aéreas (hojas y tallos) de *Alternanthera lanceolata* la cual mostró resultados positivos para compuestos grasos, flavonoides, triterpenos y esteroides; compuestos fenólicos y taninos, catequinas y saponinas ⁽¹⁰⁾.

Por lo antes expuesto, queda claro que *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla" tiene el suficiente potencial para justificar el inicio de estudios apropiados para determinar sus posibles efectos terapéuticos; por ende, el objetivo de la presente investigación fue caracterizar compuestos fenólicos en el extracto etanólico de las hojas de esta especie.

Materiales y métodos

Descripción botánica de la especie

Es una hierba cespitosa que presenta ramas ascendentes, rojizas y entrenudos delgados y largos. Tiene hojas opuestas con un tamaño de 4-10 cm de largo y 1,5-2,2 cm de ancho y láminas lanceoladas (elípticas o lineares). Asimismo, presenta flores sésiles con periantio blanco lanceolado de aproximadamente 6 cm de largo ⁽³⁾ (Figura 1).

Preparación de la muestra

Se procedió a la recolección de aproximadamente 1 k de planta completa, en el departamento de Amazonas, provincia de Luya, distrito de Luya (22 de agosto de 2017 a 24 °C).

Asimismo, se realizó la identificación taxonómica en el Museo de Historia Natural de la UNMSM, como *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla" (constancia 174- USM-2017).

Seguidamente, se seleccionaron muestras de hojas en buen estado, que se secaron y limpiaron a temperatura ambiente.

Posterior a ello, se realizó el secado de las hojas en una estufa de aire circulante (40 °C); para, finalmente, proceder a la reducción del tamaño de partículas de hojas ⁽¹¹⁾.

Elaboración del extracto

El extracto etanólico fue elaborado por agitación periódica en un intervalo de siete días. Seguidamente, la solución fue filtrada por gravedad y secada en una estufa de aire circulante a 40 °C de temperatura (Figura 2).



Figura 1. *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz conocida como "lancetilla"



Figura 2. Elaboración del extracto etanólico de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz

Ensayo de solubilidad

El extracto etanólico seco (5 mg) se trató con solventes de polaridad creciente: agua, metanol, etanol, n-butanol, cloroformo.

Tamizaje fotoquímico

El tamizaje fitoquímico consiste en un conjunto de reacciones de coloración y precipitación que se realizó para detectar los siguientes componentes químicos: taninos, compuestos fenólicos, aminoácidos libres, alcaloides, flavonoides, glicósidos y antraquinonas.

Cromatografía en capa fina (CCF)

Se realizó cromatografía en capa fina analítica del extracto etanólico, se sembró la muestra y luego se desarrolló con el sistema de solventes cloroformo: metanol (3:1). Se reveló la cromatopla de sílica gel 60-G a la lámpara de luz UV a 254 nm y a 365 nm⁷.

Determinación de estructuras químicas

Luego de realizar la cromatografía en capa fina a escala preparativa se realizó la desorción de las manchas correspondientes. Las cuales, después, fueron leídas en el espectrofotómetro UV/vis Thermo Scientific GENESYS 10S, para, posteriormente, elaborar las estructuras químicas de acuerdo a lo descrito por Mabry en 1970⁽¹²⁾.

Resultados

Al realizar el ensayo de solubilidad, se encontró que el extracto etanólico de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla" era muy soluble al metanol, decreciendo la solubilidad de forma inversamente proporcional a la polaridad del solvente (Tabla 1).

Tabla 1. Solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla"

Solvente	Resultado
1. Agua	-
2. Metanol	+++
3. Etanol	++
4. n-Butanol	++
5. Cloroformo	+

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

Durante la marcha fitoquímica, se evidenció presencia de taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, entre otros. (Tabla 2).

Al realizar la cromatografía a escala preparativa cloroformo: metanol (3:1) y revelado en luz UV 365 nm se encontraron siete manchas (Figura 3), las cuales se estudiaron para elaborar las estructuras de componentes químicos aislados de naturaleza fenólica con ayuda del espectrofotómetro (Figura 4).

Discusión

Al mezclar el extracto etanólico con solventes de mediana polaridad se obtuvieron mejores resultados en cuanto a solubilidad como el metanol y etanol, a diferencia de solventes polares como el agua. Estudios previos en otras especies han mostrado que la capacidad antioxidante guarda relación con la polaridad de la solución, siendo el solvente puro más eficiente para la extracción de componentes antioxidantes⁽¹³⁻¹⁵⁾. Esto apoya el planteamiento de que el extracto estudiado posee un buen potencial antioxidante, lo que debe ser explorado como objetivo de futuras investigaciones.

Dentro de los componentes que resultaron positivos en el tamizaje fitoquímico se encontraron taninos, glicósidos y alcaloides. De Agostino *et al.*, encontraron resultados similares al estudiar el extracto acuoso de *Alternanthera tenella*

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla"

Metabolito	Reactivo	Resultado
Taninos	Gelatina	++
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	++
Aminoácidos libres	Rx. Ninhidrina	-
Alcaloides	Rx. Dragendorff	+
	Rx. Mayer	+
Flavonoides	Rx. Shinoda	++
Glicósidos	Rx. Molisch	+
Antraquinonas	NaOH	-

(+++ Abundante; (++) Regular; (+) Poco; (-) Ausente.

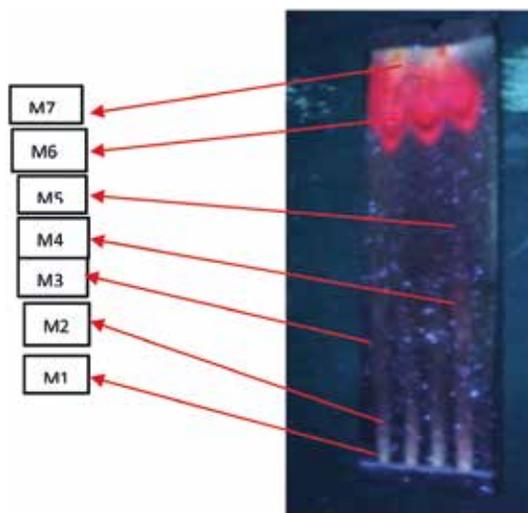


Figura 3. Cromatografía en capa fina del extracto a la luz UV 365 nm. Las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla".

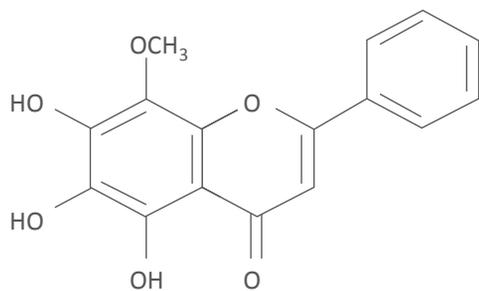
Colla y concluyó que los niveles de taninos y flavonoides podrían tener relación con el potencial antiinflamatorio e inmunomodulador que presentó esta especie ⁽¹⁶⁾.

De forma similar, Kleinowski *et al.* ⁽¹⁷⁾ y Fang *et al.* ⁽¹⁸⁾ encontraron una importante proporción de glicósidos en extractos de *Alternanthera philoxeroides*, destacando su papel en los efectos antitumorales y antivirales observados *in vitro*. Es así que incluso, Hundiwale *et al.* consideran que la presencia de glicósidos es una característica del género *Alternanthera* ⁽⁴⁾.

Asimismo, se ha detectado que algunas especies de este género poseen alcaloides, como lo encontrado por Ahamed *et al.* ⁽¹⁹⁾ en el extracto metanólico de las hojas de la especie *Alternanthera sessilis*, y Macedo *et al.* ⁽²⁰⁾ donde se encuentran estos compuestos en extractos de *Alternanthera brasiliana*, los que son relacionados con una posible acción antinociceptiva.

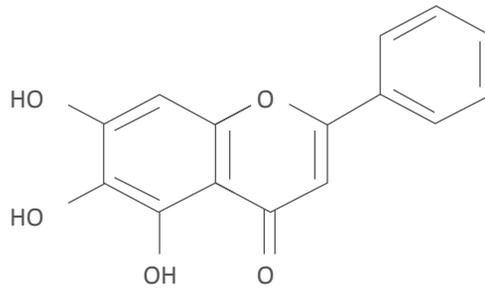
El ensayo realizado con tricloruro férrico, el extracto etanólico de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz resultó positivo demostrando la presencia de

Muestra 1 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 276,323 nm



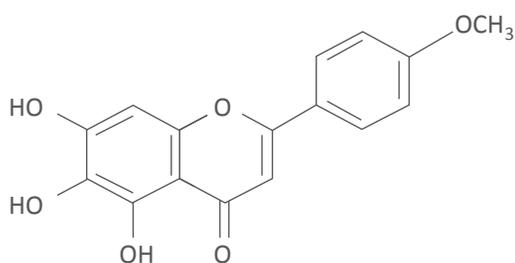
5, 6, 7 - Trihidroxi - 8 - Metoxiflavona

Muestra 2 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 276,310 nm



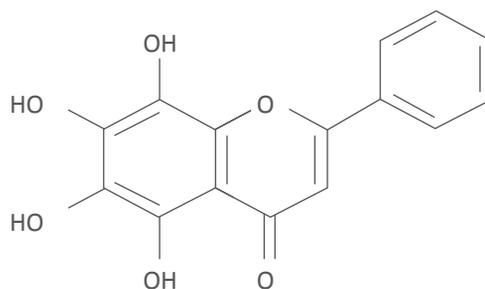
5, 6, 7 - Trihidroxiflavona

Muestra 3 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 275,322 nm



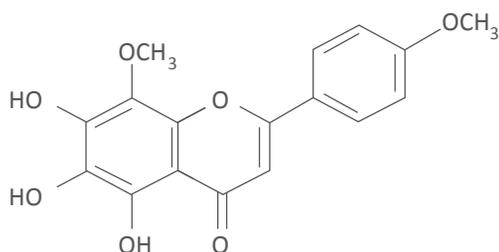
5, 6, 7 - Trihidroxi - 4' - Metoxiflavona

Muestra 4 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 279,308 nm



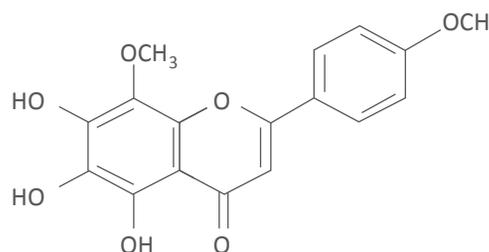
5, 6, 7, 8 - Tetrahidroxiflavona

Muestra 5 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 277,329 nm



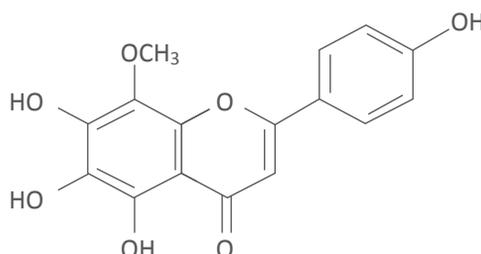
5, 6, 7, 8 - Tetrahidroxi - 4' - Metoxiflavona

Muestra 6 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 277,315 nm



5, 6, 7, 8 - Tetrahidroxi - 4' - Metoxiflavona

Muestra 7 $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ 279,315 nm



4', 5, 6, 7 - Tetrahidroxi - 8 - Metoxiflavona

Figura 4. Estructura química propuesta de los componentes fenólicos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla".

fenoles o polifenoles de acuerdo al método descrito por Olga Lock⁽¹¹⁾, lo cual es similar a los resultados obtenidos por Ramos, donde también se usaron extractos etanólicos de las hojas de esta especie⁽¹⁰⁾.

Al realizarse la lectura en el espectrofotómetro UV-Vis, se observa que las flavonas, por contar con insaturaciones entre los carbonos 2 y 3 del anillo pirano, presentan dos bandas de absorción de intensidad considerable en los rangos (310-350) nm y (350-385) nm para la banda I, y (250-280) nm para las bandas II, respectivamente. Esto concuerda con un estudio previo realizado por Martínez⁽²¹⁾ donde en el extracto etanólico de hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz; también se identificaron flavonoides con insaturaciones similares.

Dentro de las estructuras químicas propuestas, cabe destacar el hallazgo de la 5,6,7-trihidroxidiflavona, conocida con el nombre de baicaleína, la cual ya ha sido hallada en el extracto metanólico (y fracciones) de *Alternanthera philoxeroides*⁽²²⁾. Este flavonoide ha presentado buenos resultados como agente antibacterial, antiviral, antiinflamatorio, hepatoprotector, diurético, y antitumoral, tanto en estudios experimentales con modelos animales y con ensayos clínicos⁽²³⁾. Futuros estudios podrían explorar estos efectos en modelos animales, con el uso de extractos de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz.

Este es un estudio preliminar que aporta a dirigir mejores esfuerzos hacia la investigación preclínica de esta especie, sin embargo, no está exento de limitaciones. Por ejemplo, el método de extracción de los compuestos fenólicos es todavía empírico, cuando en la literatura actual ya se pueden observar estudios que usan métodos con una mayor exactitud como las asistidas por ultrasonido, por microondas o mixtas⁽²⁴⁾. Se recomienda que futuros estudios evalúen el uso de estas tecnologías para corroborar los resultados obtenidos.

Asimismo, se sugeriría completar los estudios de caracterización y estandarización fitoquímica del presente extracto, con el objetivo de completar el análisis de toxicidad aguda/crónica y evaluar efectos antioxidantes o antiinflamatorios con técnicas *in vitro*.

En conclusión, se proponen las estructuras y características de algunos compuestos fenólicos tipo flavonas (5,6,7-Trihidroxi-8-metoxiflavona; 5,6,7-Trihidroxiflavona; 5,6,7-Trihidroxi-4'-metoxiflavona; 5,6,7,8-Tetrahidroxiflavona; 5,6,7,8-Tetrahidroxi-4'-metoxiflavona; 4',5,6,7-Tetrahidroxi-8-metoxiflavona) en el extracto etanólico de hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz "lancetilla".

Referencias bibliográficas

- Lock O, Perez E, Villar M, Flores D, Rojas R. Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine. *Nat Prod Commun.* marzo de 2016;11(3):315–37.
- Monigatti M, Bussmann R, Téllez C, Vega C. Uso de plantas medicinales en los andes norte del Perú. *Conocimientos en etnobotánica de la población de Uchumarca, Púsac y San Vicente de Paúl.* Trujillo: Graficart; 2013. 109 p.
- Blair S, Madrigal B. Plantas antimaláricas de Tumaco: costa pacífica colombiana. Universidad de Antioquia; 2005. 367 p.
- Hundiwale J, Patil A, Kulkarni M, Patil D, Ravindra M. A current update on phytopharmacology of the genus *Alternanthera*. *J Pharm Res.* 5(4):1924–9.
- De Souza MM, Kern P, Floriani AEO, Cechinel-Filho V. Analgesic properties of a hydroalcoholic extract obtained from *Alternanthera brasiliana*. *Phytother Res.* 1 de junio de 1998;12(4):279–81.
- Shyamala BN, Gupta S, Jyothi Lakshmi A, Prakash J. Leafy vegetable extracts—antioxidant activity and effect on storage stability of heated oils. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 1 de junio de 2005;6(2):239–45.
- Guerra RNM, Pereira H -a. W, Silveira LMS, Olea RSG. Immunomodulatory properties of *Alternanthera tenella* Colla aqueous extracts in mice. *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Medicas E Biol.* septiembre de 2003;36(9):1215–9.
- Mesa J, Blair S, Saez J, Correa A, Carmona J. In vitro antimalarial evaluation of extracts of the plants *Alternanthera lanceolata* and *Pollalesta discolor*. Vol. 94. 1998. 67 p.
- Pabón A, Saez J, Blair S. Plantas colombianas con actividad antimalárica. *Rev Cuba Plant Med.* 2004;9(Supl. 1):1–2.
- Carrión R, Rocio M, Ramos S, Franklin R. Características farmacognósticas de las hojas de *Alternanthera lanceolata* (benth.) schinz “lancetilla” proveniente del distrito de Urpay provincia de Sánchez Carrión región La Libertad. *Univ Nac Trujillo [Internet].* 2016 [citado 22 de noviembre de 2017]; Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3506>
- Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994. 98-102 p.
- The Systematic Identification of Flavonoids | Tom Mabry | Springer [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2017]. Disponible en: [//www.springer.com/gp/book/9783642884603](http://www.springer.com/gp/book/9783642884603)
- Boeing JS, Barizão ÉO, e Silva BC, Montanher PF, de Cinque Almeida V, Visentainer JV. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. *Chem Cent J.* 22 de agosto de 2014;8:48.
- Santas J, Carbó R, Gordon MH, Almajano MP. Comparison of the antioxidant activity of two Spanish onion varieties. *Food Chem.* 1 de abril de 2008;107(3):1210–6.
- Althman M, Bhat R, Karim AA. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chem.* 1 de agosto de 2009;115(3):785–8.
- Biella C de A, Salvador MJ, Dias DA, Dias-Baruffi M, Pereira-Crott LS. Evaluation of immunomodulatory and anti-inflammatory effects and phytochemical screening of *Alternanthera tenella* Colla (Amaranthaceae) aqueous extracts. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* septiembre de 2008;103(6):569–77.
- Kleinowski AM, Brandão IR, Einhardt AM, Ribeiro MV, Peters JA, Braga EJB. Pigment production and growth of *Alternanthera* plants cultured *in vitro* in the presence of tyrosine. *Braz Arch Biol Technol.* abril de 2014;57(2):253–60.
- Fang J-B, Yao Z, Chen J-C, Liu Y-W, Takaishi Y, Duan H-Q. Cytotoxic triterpene saponins from *Alternanthera philoxeroides*. *J Asian Nat Prod Res.* 2009;11(3):261–6.
- Hossain AI, Faisal M, Rahman S, Jahan R, Rahmatullah M. A preliminary evaluation of antihyperglycemic and analgesic activity of *Alternanthera sessilis* aerial parts. *BMC Complement Altern Med.* 24 de mayo de 2014;14:169.
- Macedo AF, Barbosa NC, Esquibel MA, Souza MM, Cechinel-Filho V. Pharmacological and phytochemical studies of callus culture extracts from *Alternanthera brasiliana*. *Pharm.* octubre de 1999;54(10):776–7.
- Martínez Garcia C. Identificación de flavonoides con actividad antioxidante presentes en *Alchornea coelophylla* (Euphorbiaceae). 2014 [citado 23 de noviembre de 2017]; Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/4609>
- Bhattacharjee S. Anti-biofilm potentiality of *Alternanthera philoxeroides*: A study with methanolic plant extract. *Eur J Pharm Med Res.* 2016;3(12):247–53.
- Zhang X-P, Li Z-F, Liu X-G. Review in pharmacological study of Baicalein. *Chin Pharmacol Bull.* 2001;17(6):711–6.
- Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules.* 19 de febrero de 2013;18(2):2328–75.