

IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS ANTIXODANTES PRESENTES EN CEDRÓN MEDIANTE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H

Ramírez-Godínez J^a, Salazar-Pereda V^a, Añorve-Morga J^a,
Castañeda-Ovando A^a, Jaimez-Ordaz J^a, González-Olivares L.G^a y Contreras-López E^a

^aUniversidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Ciudad del Conocimiento,
Carretera

Pachuca-Tulancingo Km 4.5 s/n, Colonia Carboneras, C.P. 42184, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México

*eliclopez@yahoo.com.mx

RESUMEN:

El cedrón (*Aloysia triphylla*) es una planta que posee propiedades medicinales, algunas de estas son asociadas a compuestos antioxidantes. Por esto, el objetivo de este trabajo fue identificar mediante RMN de ^1H , los compuestos presentes en cedrón responsables de la actividad antioxidante. Las hojas de cedrón fueron recolectadas en Zacualtipán de Ángeles, Hidalgo. Éstas fueron secadas a temperatura ambiente, bajo sombra y con buena aireación. Se realizaron extractos en acetato de etilo y en agua; el exceso de solvente fue evaporado a vacío y liofilizado, respectivamente. 300 mg de cada extracto seco de cedrón fueron colocados en la columna de sílica y eluidos con hexano para separar los compuestos menos polares. Posteriormente, se agregaron mezclas de hexano:éter en distintas proporciones (8:2,6:4 y 3:7). Una vez recolectadas las fracciones, éstas se agruparon en base a su R_f ; una vez confirmada la pureza, se evaporó el disolvente y se procedió a la identificación por RMN ^1H . Los espectros de RMN- ^1H de los extractos realizados en acetato de etilo y agua mostraron la presencia tres terpenos: citral, neral y limoneno. Sin embargo, no se descarta la presencia de otro tipo de compuestos con actividad antioxidante.

ABSTRACT:

The lemon verbena (*Aloysia triphylla*) is a plant with medicinal properties; some of them, associated with antioxidant compounds. Therefore, the aim of this work was to identify by ^1H -NMR, the compounds present in lemon verbena which are responsible for antioxidant activity. Lemon verbena plants were collected in Zacualtipán de Ángeles, Hidalgo (Mexico). The leaves were separated and subsequently dried at room temperature, in the shade and with proper ventilation. Extracts in ethyl acetate and water were conducted; excess of solvent was vacuum evaporated and lyophilized, respectively. Three hundred miligrams of each dry extract were placed inside the silica column and were eluted with hexane to remove the less polar compounds. Then, mixtures of hexane: ether in various proportions (8:2, 6:4 and 3:7) were added. The fractions collected were grouped based on their R_f ; once confirmed the purity, the solvent was evaporated and we proceeded to identify the antioxidant compounds by ^1H NMR. The spectra of both extracts analyzed showed the presence of three terpenes: citral, neral and limonene. However, the low intensity of the signals obtained, may indicate instability of these compounds since they are highly susceptible to oxygen and light. Finally, the presence of other compounds with antioxidant activity is not discarded.

Palabras clave:

Aloysia triphylla, compuestos antioxidantes, RMN- ^1H

Keyword:

Aloysia triphylla, antioxidant compounds, ^1H -NMR

Área: Otros

INTRODUCCIÓN

El cedrón pertenece a la familia *Verbenaceae*, cuyo nombre botánico es *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton. De ésta se utilizan las partes aéreas (hojas), desecadas o frescas en floración, debido a que la mayoría de los compuestos antioxidantes se concentran en esta parte de la planta; así mismo una gran cantidad de los compuestos esenciales que le dan ese aroma y sabor a cítrico. El cedrón es una de las especies populares por no conocerseles adulterantes en la composición de sus aceites esenciales a excepción de su variación por el origen y condiciones de cultivo. Sin embargo si se pueden encontrar compuestos derivados de esta planta de calidad inferior, que se detectan fácilmente por el aroma totalmente distinto ya que en algunos casos son menos cítricos y frescos (Bandoni and Dellacassa 2003).

Actualmente existen pocos estudios que indiquen el tipo de compuestos químicos responsables de las propiedades medicinales atribuidas al cedrón, por lo tanto el objetivo de este trabajo fue identificar mediante resonancia magnética nuclear de protón (RMN de ^1H), los compuestos presentes en los extractos obtenidos en acetato de etilo y en agua de *Aloysia triphylla* (L'Her) Britton, responsables de la actividad antioxidante (Bandoni and Dellacassa 2003).

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de extractos

Extracto en acetato de etilo

A 300 g de hojas de cedrón pulverizadas, se llevó a cabo una extracción a reflujo y baja temperatura con 500 mL de acetato de etilo durante 14 h. Posteriormente, la mezcla se filtró a vacío y el líquido remanente se concentró en un rotavapor *BUCHI*.

Extracto acuoso

Se pesaron 400 g de hojas secas y se adicionaron 700 mL de agua destilada a 90 °C por 5 min hasta obtener la infusión. Posteriormente se ultracongeló en el equipo Thermoelectroncorporation a una temperatura de $-77 \pm 3^\circ\text{C}$, por 24h, el residuo se sometió a liofilización por 72 h, hasta la obtención de un sólido pulverulento.

Separación en columna

Se realizaron pruebas de solubilidad a los extractos secos obtenidos. En esta prueba se tomó en consideración el grado de polaridad de los solventes: acetona, hexano, metanol, cloruro de metileno y éter. Se realizaron pruebas cromatográficas en sílice gel soportadas en aluminio, con la finalidad de determinar el eluyente ideal para la purificación de los diferentes compuestos químicos de cada uno de los extractos usando como eluyentes hexano y éter.

Separación de compuestos

De cada extracto se tomaron 300 mg y se sometió a una separación en una columna de vidrio de 2 cm de diámetro interno, gel de sílice (20 cm), inicialmente se pasó un volumen considerado de hexano para separar los compuestos menos polares. Una vez terminado este proceso, se procedió a agregar las mezclas de eluyente hexano-

éter en las siguientes proporciones 8:2, 6:4 y 3:7. Cabe mencionar que las fracciones se colectaron con un volumen de entre 3 y 5 mL, obteniendo un total de 114 y 131 fracciones del extracto del acetato de etilo y 129 de liofilizado. Cada una de las fracciones se sometió a un análisis de placa fina CCF para su agrupación.

Identificación por Resonancia Magnética Nuclear de protón (RMN ^1H)

Una vez recolectadas las fracciones, estas se agruparon con base en su R_f y una vez que se confirmó la pureza se evaporó el disolvente y se procedió a la identificación por RMN ^1H .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio por RMN de ^1H de los extractos en acetato de etilo y agua

Se reportaron la existencia de diversas clases de cedrón, las cuales pueden contener algunos de los siguientes compuestos: geranial, limoneno y neral (Oyanadel, 2002). Con base en lo anterior, se tomaron como referencia datos de RMN de ^1H teóricos de los compuestos antes mencionados y que fueron reportados por Pretsch *et al.* (2000) para su posterior comparación con los datos experimentales obtenidos después del tratamiento de recolección, clasificación y secado de las muestras correspondientes.

En el espectro de RMN de ^1H obtenido en CDCl_3 , a 20 °C y 400 MHz, de las fracciones 48 a 69 (en acetato de etilo), se observa la presencia de los tres aceites esenciales en mínima proporción y esto se visualiza debido a que la señal del CDCl_3 es de gran intensidad (7.27 ppm), se deduce que las fracciones no están aisladas al 100% ya que se observan señales que no corresponden a los complejos que se buscan, a esto se añade la presencia de impurezas como el tereftalato de sodio, el cual proviene del hexano y su presencia depende del grado de pureza del disolvente utilizado (Pretsch *et al.*, 2000).

Los espectros que se muestran en las figuras 2 y 3 correspondientes a las fracciones, tanto en acetato de etilo como en medio acuoso, presentan el mismo patrón que el comentado previamente en la figura 1, en donde no se realizó una adecuada separación de los compuestos de los extractos naturales obteniendo así, bajas concentraciones (Rusak *et al.*, 2008).

De acuerdo con los resultados del estudio de RMN de ^1H se puede observar que en ambos extractos (figura 4), se encuentran presentes en las últimas fracciones los terpenoides (cital, neral y limoneno), particularmente cuando el disolvente es de elevada polaridad (Rusak *et al.*, 2008)

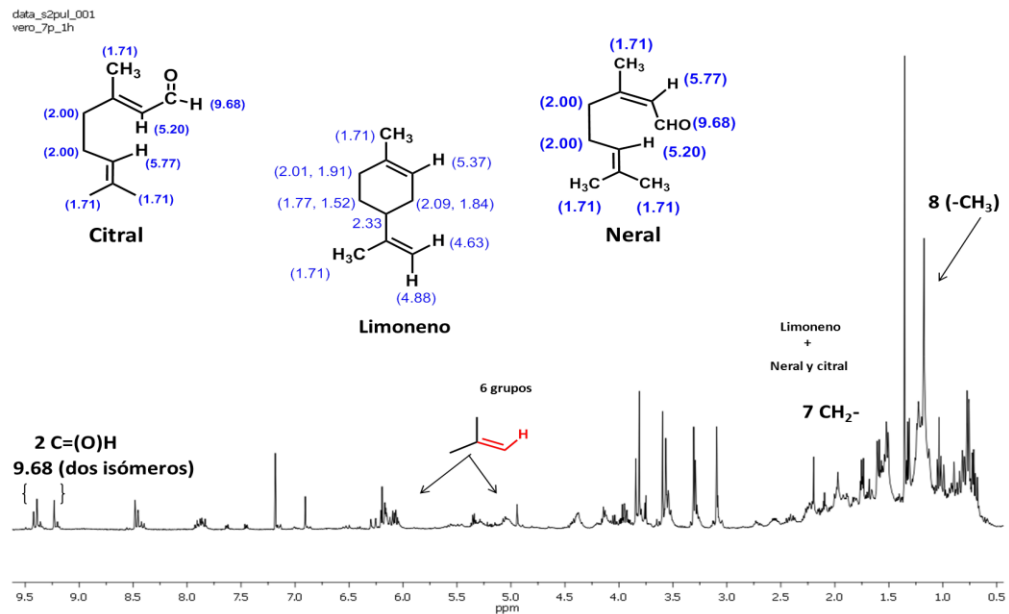


Figura 3. Espectro RMN de ^1H de las fracciones 112 a 129 del extracto acuoso de cedrón

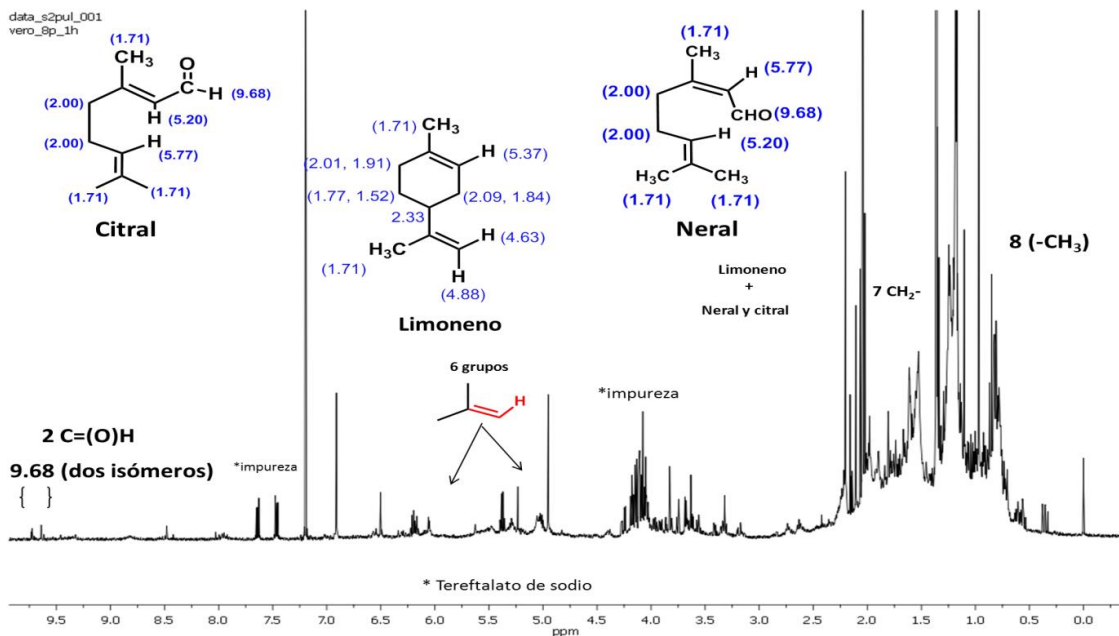


Figura 4. Espectro RMN de ^1H de las fracciones 112 a 129 del extracto acuoso de cedrón

CONCLUSIONES

Los resultados del estudio de RMN de ¹H mostraron que tanto en el extracto acuoso como en acetato de etilo de las hojas de cedrón, se encuentran presentes los compuestos citral, neral y limoneno. Con base en la intensidad de las señales en RMN de ¹H para estos compuestos (citral, neral y limoneno) son de bajo rendimiento, esto puede atribuirse a la inestabilidad de dichos compuestos ya que son altamente susceptibles a la presencia de oxígeno y luz. Sin embargo, la calidad de la separación de las fracciones pudo haber influido en la obtención de dichos resultados.

BIBLIOGRAFÍA

- Bandoni AL and Dellacassa E. 2003. Hierbaluisa *Aloysia citriodora* Palau. *Revista de Fitoterapia* 3(1):19-25.
- Carey F. 2006. *Química Orgánica*. Sexta edición. Mc. Graw Hill (eds): México, pp 531, 543.
- Pretsch E., Bühlmann P. and Affolter C. 2000. *Structure Determination of Organic Compounds. Tables of Spectral Data*. Editorial Springer, Berlin Heidelberg, pp. 520.
- Rusak G., Komes D. Likić S., Horžić D. and Kovač M. 2008. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry*, 110 (4): 852-558 2008.