

# Metabolitos secundarios y actividad hipoglicemiante de la *Myrcianthes myrsinoides* (HBK). Grifo

## Secondary metabolites and hypoglycemiatic activity of *Myrcianthes myrsinoides* (HBK). Grifo

Rosa Aguilar Alva<sup>1</sup>, Marlon García Armas<sup>2</sup>, Zoila Honores Ganoza<sup>3</sup>, José Llanos Quevedo<sup>4</sup>

### RESUMEN

La *Myrcianthes myrsinoides* (HBK). Grifo, conocida como *rumilanche*, pertenece a la familia Myrtaceae, se usa en medicina tradicional como antibacteriana e hipoglicemiante. El propósito de este trabajo fue identificar grupos de metabolitos secundarios responsables de sus actividades farmacológicas. De un macerado cloroformico en frío usando 2 kg de las hojas secas y molidas, se obtuvo un extracto de 52,638 g. Los siguientes grupos de metabolitos secundarios fueron identificados cualitativamente con ensayos a la gota: flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y taninos. Parte del extracto fue sometido a cromatografía de columna gruesa al vacío usando como eluyentes: hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol obteniéndose 6 fracciones: HE1 (hexano); CF1 y CF2 (cloroformo); AE1 y AE2 (acetato de etilo) y ME1 (metanol). Para el ensayo farmacológico de la actividad hipoglicemiante se usó ratas blancas Holzteim de 200 g de peso corporal promedio y tres dosis con el extracto CF2 de concentraciones: 0,0675 mg/kg, 0,133 mg/kg y 0,257 mg/kg. El resultado fue positivo con las tres concentraciones, siendo el más significativo el de 0,257 mg/kg.

**Palabras clave:** *Myrcianthes myrsinoides*, metabolitos secundarios, actividad hipoglicemiante.

### ABSTRACT

The *Myrcianthes myrsinoides* (HBK). Grifo, known as *rumilanche*, belongs to the Myrtaceae family and is used in the traditional medicine as antibacterial and hypoglycemiatic. It was extracted at room temperature by chloroform from a dried mild plant obtaining an 52,638 g of extract. The following secondary metabolites were identified in a qualitative way using drop assays: flavonoids, phenolic compounds, steroids and tannins.

Ten grams of this extract was chromatographed vacuum column. Chloroform, hexane, ethyl acetate and methanol were used as eluents and 6 fractions were obtained: HE1 (hexan); CF1 and CF2 (chloroform) AE1 and AE2 (ethyl acetate), and ME1 (methanol). Pharmacologic assays was performed in order to evaluate the hypoglycemiatic effect using Holzteim white rats, with 200 g as average weight and three doses of CF2: 0,0675 mg/kg, 0,133 mg/kg y 0,257 mg/kg. All doses were positives and the 0,0257 mg/kg had the most significant effect.

**Key words:** *Myrcianthes myrsinoides*, secondary metabolites, hypoglycemiatic activity.

<sup>1</sup> Ing. Químico. Maestra en Ciencias Químicas. Profesora de la Universidad Privada Antenor Orrego.

<sup>2</sup> Ing. Químico. Doctor en Ciencias Químicas. Profesor Asociado de la Universidad Privada Antenor Orrego.

<sup>3</sup> Ing. Químico. Doctora en Ciencias Químicas. Profesora de la Universidad Privada Antenor Orrego.

<sup>4</sup> Lic. en Biología. Doctor en Biología. Profesor Principal de la Universidad Nacional de Trujillo.

## I. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido, desde la antigüedad, un recurso del ser humano para su alimentación y la cura de sus enfermedades. En la actualidad, muchas plantas son utilizadas en la medicina folclórica para aliviar diversas enfermedades. La fitoquímica estudia las plantas, buscando los principios activos con efectos terapéuticos. Para esto, usa técnicas de separación, aislamiento y espectroscópicas con el propósito de determinar sus estructuras químicas; y técnicas de síntesis para efectuar modificaciones estructurales en busca de mejorar la actividad y selectividad (Lock 1994, 3-11).

La mayoría de los principios activos de las plantas corresponden a productos naturales o metabolitos secundarios. Los más comunes son los alcaloides, esteroides, diterpenos, sesquiterpenlactonas, flavonoides, cumarinas, benzofuranos, xantatos, quinonas (Lock y Peralta 1988). Estos son compuestos químicos de estructura relativamente compleja cuya función metabólica aún no es clara. Las propiedades terapéuticas están siendo científicamente comprobadas, por lo que el uso de las plantas medicinales se debe potenciar a fin de que mayores sectores populares accedan a un mejor bienestar y salud. (Lock 1994, 6,8,10).

La familia Myrtaceae es muy extensa, está formada por un gran número de plantas leñosas que van desde matas hasta grandes árboles. La familia comprende aproximadamente 100 géneros y 3 000 - 3 500 especies. En el Perú se presenta 20 géneros y 165 especies (Brako y Zarvechi,1993).

Las Myrtaceaeas endémicas se encuentran principalmente en regiones húmedas amazónicas y mesoandina, entre los 100 y 3 600 m de altitud. Seis de ellas se encuentran dentro del Sistema Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado peruano (Kawasaki, Holst y Bruce,2006).

En el hemisferio occidental hay alrededor de 30 géneros en esta familia, de los cuales el *Eugenia* es el más grande con cerca de 500 especies. En el Perú han sido identificadas 16 especies.

Se ha encontrado de gran importancia económica y medicinal en esta familia, plantas de gran interés y utilidad por sus frutos comestibles, obtención de aceites, maderas y su actividad curativa como puede observarse en el Cuadro 1, donde se reporta algunos de los efectos encontrados para la *Eugenia jambolana* (Suman, Afreena, Krishna *et al.*,2000), *Eugenia caryophyllata* (Pourgholami, Kamalinejad, Javadi *et al.*,1999), *Eugenia sandwicensis* (Jian-Qiao, Eun, Lumonadio *et al.*,2001), *Eugenia uniflora* (Consolini, Baldini, Amat, 1999) y *Eugenia umbelliflora* (Kuskoski y col. 2000).

Especies de la familia Myrtaceaeas han demostrado tener efecto: analgésico, antimicótico, estomacal, antiinflamatorio, antipirético, antibacteriano, antidiarreico, hipoglicemiante.

La *Myrcianthes myrsinoides* (*Eugenia triquetra* berg) pertenece a esta familia y se deduce que tenga también cualquiera de estas actividades y posea constituyentes químicos importantes con acción farmacológica para el tratamiento de enfermedades.

En la presente publicación se presenta los resultados del efecto hipoglicemiante de la fracción clorofórmica CF2 y los resultados de los metabolitos secundarios identificados en el extracto clorofórmico inicial.

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 . Recurso vegetal

La *Myrcianthes myrsinoides*, “rumilanche”, pertenece a la familia Mirtáceas, al género *Myrcianthes* y a la especie *myrsinoides*. La figura 1 muestra la imagen de la planta seca después de su recolección. Las muestras fueron

Cuadro 1  
USOS REPORTADOS DE ALGUNAS *Eugenias*

Especie	Actividad
<i>Eugenia jambolana</i>	Hipoglicemiante, antioxidante.
<i>Eugenia caryophyllata</i>	Fungicida, antioxidante, anticancerígeno, diarreas, desordenes digestivos, pediculicidal.
<i>Eugenia sandwicensis</i>	Antioxidante, prevención del cáncer.
<i>Eugenia uniflora</i>	Hipertensivo, fiebre y reumatismo, antimicrobiana, antimicótica.
<i>Eugenia umbelliflora</i>	Obtención de pigmentos.



Figura 1. *Myrcianthes myrsinoides*(HBK) Grifo.

recolectadas de la provincia de Chota, departamento de Cajamarca, a una altitud de 2700 msnm, en la cordillera de Tarros, entre las localidades de La Capilla y San Andrés de Cutervo (Soukup, 1998).

## 2.2. Preparación de la muestra

Las ramas y hojas de la planta fueron secadas a temperatura ambiente y bajo sombra por espacio de una semana y posteriormente en estufa a 40 °C. El material resultante fue molido con un molino casero (Moulinex) y almacenada en frascos de vidrio de boca ancha.

## 2.3. Obtención de extractos por maceración

En un frasco de vidrio de boca ancha y de 20 litros de capacidad, se colocó 2 kg de muestra seca y molida y se le

adiciono 11 litros de cloroformo; luego, la mezcla se agitó y dejó macerar durante 7 días con agitación manual diaria por espacio de 5 minutos, para obtener un material de color verdusco que fue filtrado y concentrado en rotavapor a 40 °C y 40 mmHg.

## 2.4. Determinaciones cualitativas

El extracto clorofórmico fue sometido a ensayos a la gota. La identificación cualitativa de alcaloides se realizó con las reacciones de coloración de Dragendorff, Mayer y Wagner. Los esteroides con el ensayo de Libermann-Burchard; flavonoides con la prueba de Shinoda; compuestos fenolicos, con la prueba de cloruro férrico; saponinas, con la prueba de espuma; y taninos con el ensayo de gelatina sal (Lock 1994, 195-204).

## 2.5. Separaciones

Del extracto clorofórmico, 10 g se fraccionaron en una columna líquida al vacío (CLV), con soporte de silicagel (60GF<sub>254</sub>) usando eluyentes de acuerdo a polaridad creciente: hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol, obteniéndose 6 fracciones.

## 2.6. Determinación de la actividad hipoglicemiante

Se usó un modelo en vivo con ratas Holzteim hembras y machos de 200 g de peso en promedio (Setter, 1978). Con la fracción CF2 se prepararon tres soluciones acuosas con las concentraciones: 0,0135 g/mL, 0,0266 g/mL y 0,0514 g/mL.

Después de haber sido sometidas a ayuno, las 20 ratas fueron pesadas y se extrajo una gota de sangre de su cola para determinar el nivel basal de glucosa con un glucómetro. Luego, con una sonda gástrica se suministró 2mL

de glucosa a cada una. El nivel de glucosa fue determinado a la hora de haber sido suministrada la glucosa y luego cada media hora hasta completar los 150 minutos.

Posteriormente se formó tres grupos de experimentación, con una selección al azar, dos grupos de 7 ratas cada uno y uno de 6. Al primer grupo se le suministro 2 ml de glucosa con sonda bucal y 2 mL de fracción CF2 de concentración 0,0135 g/mL, previa determinación de su glucosa basal, para luego medir el nivel de glucosa cada media hora. Lo mismo se hizo con los otros dos grupos pero usando las concentraciones de 0,0266 g/mL y 0,0514 g/mL.

## III. RESULTADOS

### 3.1. Determinación de extractos

De 2 kg de planta seca y molida, por maceración, se obtuvo 52,638 g de extracto clorofórmico de color marrón oscuro de apariencia pastosa.

Cuadro 2  
FRACCIONES DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA AL VACÍO

Fracción	Color	Peso (g)
HE1	Amarrillo claro	0,624
CF1	Amarillo oscuro	1,343
CF2	Verde petróleo	2,469
AE1	Verde negrusco	2,482
AE2	Verde oscuro	2,600
ME1	Verde oscuro	0,600

Cuadro 3  
GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Prueba	Color	Resultado	Metabolito
Shinoda	Azul	+	Flavonona
FeCl <sub>3</sub>	Verde petróleo	+	Comp. Fenólicos
Lieberman Burch	Verde azulado	+	Esteroides
Dragendorf	Rojo (ppdo)	+	Alcaloides
Mayer	Blanco(ppdo)	+	Alcaloides
Wagner	Marrón	-	Alcaloides
Prueba de espuma	Igual a la muestra	-	Saponinas
Gelatina-Sal	Blanco (ppdo)	+	Taninos

Cuadro 4  
VALORES DE ÍNDICE DE GLUCOSA DESPUÉS DE SUMINISTRAR  
2 mL DE GLUCOSA AL 50% A CADA RATA

Rata	Basal	Tiempo (min)			
		60	90	120	150
R1	109	141	140	126	129
R2	75	135	113	121	108
R3	47	64	118	117	98
R4	36	62	98	113	115
R5	30	29	86	136	106
R6	66	102	134	137	102
R7	77	114	120	141	109
R8	67	104	118	124	53
R9	41	59	115	127	62
R10	69	56	81	89	103
R11	68	76	104	88	106
R12	52	43	52	119	129
R13	52	40	44	60	57
R14	63	63	132	141	136
R15	74	155	160	154	93
R16	65	90	112	133	117
R17	39	30	65	101	116
R18	60	99	132	145	138
R19	28	31	130	126	75
R20	66	68	154	170	136
Promedio	59,2	78,05	110,4	123,4	104,3

### 3.2. Cromatografía líquida al vacío

De 10 g de extracto se obtuvo seis fracciones (Cuadro 2).

### 3.3. Determinación de grupos de metabolitos secundarios

Las determinaciones cualitativas en el extracto clorofórmico fueron deducidas de las coloraciones (Cuadro 3).

### 3.4. Actividad hipoglicemiante

En el Cuadro 4 se reportan los niveles de glucosa de las 20 ratas, luego de suministrarles 2 mL de glucosa al 50%. En los Cuadros 5, 6 y 7 se incluyen los niveles de glucosa después de suministrar 2 mL de glucosa al 50% y 2 mL de la fracción clorofórmica CF2 a las dosis 0,0675 mg/kg, 0,133 mg/kg y 0,257 mg/kg, respectivamente.

## IV. DISCUSIÓN

La evaluación del efecto hipoglicemiante estuvo orientada a determinar la dosis adecuada de extracto para controlar el aumento del nivel de glucosa en la prueba de tolerancia que sucede después de los 150 minutos de haber suministrado la glucosa.

Con la dosis 0,0675 mg/kg no existió una disminución significativa del nivel de glucosa, más si con la dosis 0,257 mg/kg, los resultados demuestran que esta concentración modifica la absorción de glucosa, siendo más notorio a los 120 minutos donde está el pico de glicemia en ratas normales y desciende con la dosis hasta 76,71 mg/mL no lográndose este efecto con las otras dosis, la segunda fue 87,57 y la tercera de 117,16 lo que demostró que la dosis efectiva es la de 0,257 mg/kg. La

**Cuadro 5**  
**VALORES DE ÍNDICE DE GLUCOSA DESPUÉS DE SUMINISTRAR**  
**2 mL DE GLUCOSA AL 50% Y 2 mL CF2 0,0675mg/kg**

Rata	Basal	Tiempo (min)			
		60	90	120	150
R15	86	131	144	119	119
R16	102	115	122	93	118
R17	106	106	142	121	116
R18	97	117	132	122	102
R19	89	123	118	124	123
R20	93	175	169	170	125
Promedio	95,5	127,83	137,83	124,83	117,16

**Cuadro 6**  
**VALORES DE ÍNDICE DE GLUCOSA DESPUÉS DE SUMINISTRAR**  
**2 mL DE GLUCOSA AL 50% Y 2 mL DE DOSIS CF2 0,133mg/kg**

Rata	Basal	Tiempo (min)			
		60	90	120	150
R8	99	132	147	97	90
R9	72	140	95	73	47
R10	100	119	123	103	104
R11	81	146	134	142	118
R12	47	85	97	76	72
R13	42	117	109	86	73
R14	110	133	151	83	109
Promedio	78,57	124,57	122,28	94,28	87,57

**Cuadro 7**  
**VALORES DE ÍNDICE DE GLUCOSA DESPUÉS DE SUMINISTRAR**  
**2 mL DE GLUCOSA AL 50% Y 2 mL DE DOSIS CF2 0,257 mg/kg**

Rata	Basal	Tiempo (min)			
		60	90	120	150
R1	79	136	129	101	86
R2	27	68	74	47	38
R3	76	81	73	71	56
R4	37	73	98	83	56
R5	60	130	108	69	70
R6	52	125	88	79	82
R7	76	144	133	87	81
Promedio	59,28	108,14	100,42	76,71	67

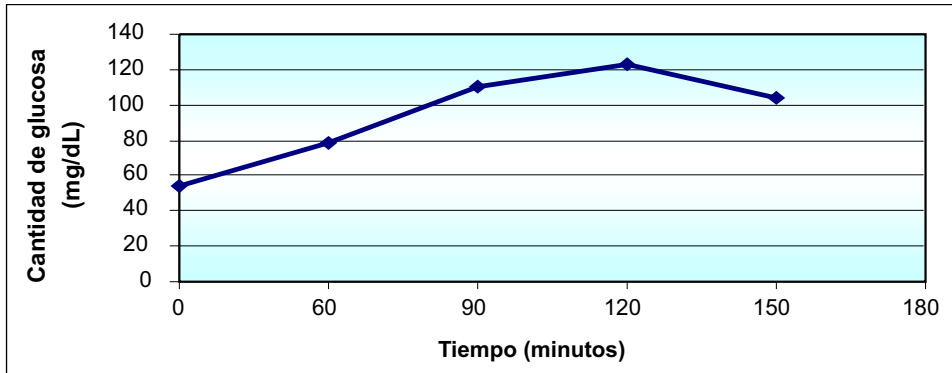


Figura 2. Curva de Tolerancia a la Glucosa.

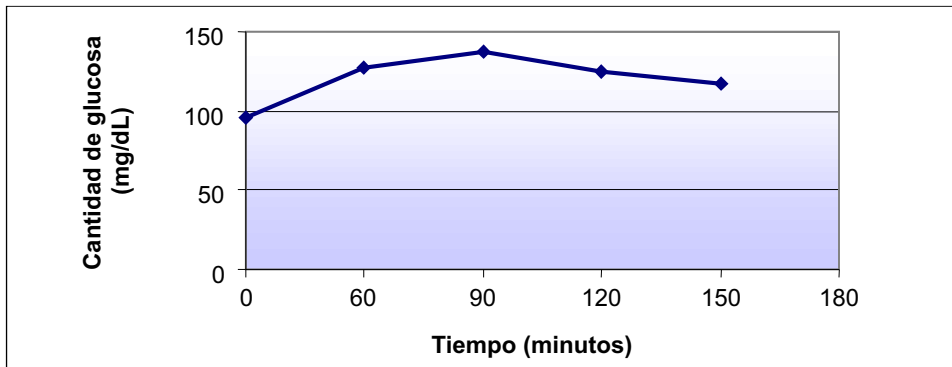


Figura 3. Actividad hipoglicemiante de CF2 - Dosis: 0,0675 mg/kg.

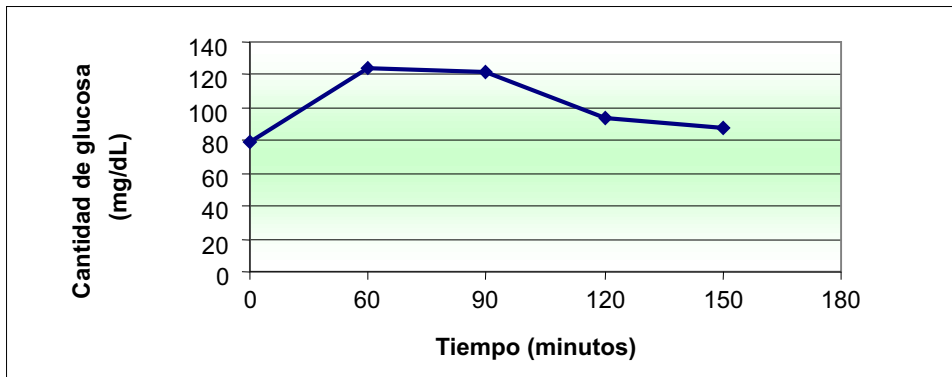


Figura 4. Actividad hipoglicemiante de CF2- Dosis :0,133 mg/kg.

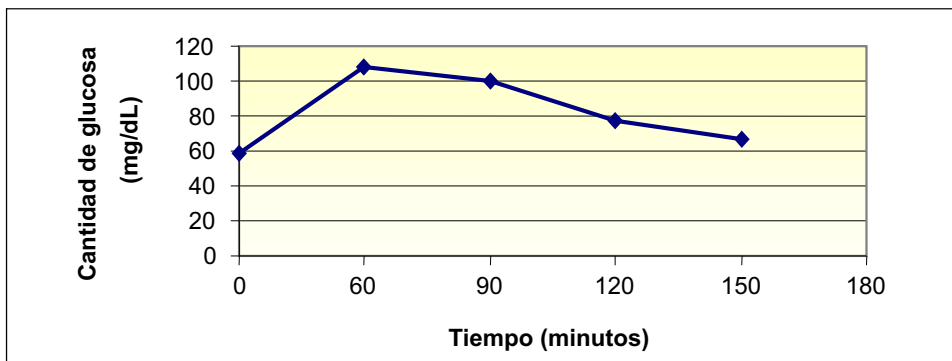


Figura 5. Actividad hipoglicemiante de CF2- Dosis: 0,257mg/kg.

concentración de valor media corresponde a la usada por humanos.

## V. CONCLUSIONES

1. La *Myrcianthes myrsinoides* (HBK).Grifo tiene como metabolitos secundarios, flavononas, compuestos fenólicos, esteroides y taninos.

2. La concentración de CF2 que presenta mayor actividad hipoglicemiante es de 0,0514 mg/mL a los 120 minutos de aplicado la glucosa y la de menor actividad la de 0,0135 mg/mL.

## VI. AGRADECIMIENTOS

A los doctores Douglas Sharon y Rainer Bussmann de la universidad de California - Berkeley, a la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo por todo el apoyo blindado y a la doctora Margarita Román Vargas de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de Trujillo por el apoyo y aliento para realizar este trabajo.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brako, L.y Zarvechi, J. (1993) Catalogue of the flowering plants and Gymnosperms of the Perú. By Missouri Botanical Garden volumen 45. Monographs in Systematic Botanny.  
Consolini E., Osvaldo A., Baldini y Aníbal G. Amat, Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive, Journal of Ethnopharmacology, Volume 66, Issue 1, July 1999, Pags 33-39.  
Jian-Qiao G., Eun J., Lumonadio L., Michael E., Hawthorne, Rajendra G., Mehta, Norman R., Farnsworth, John M., Pezzu-

to y Douglas K., Constituents of *Eugenia sandwicensis* with potential cancer chemopreventive activity, Phytochemistry, Volume 58, Issue 1,, September 2001, Pages 121-127.

Kawasaki, y Holst, Bruce K. Myrtaceae endémicas del Perú. *Rev. peru biol.*, dic. 2006, vol.13, no.2, p.463-468. ISSN 1727-9933.

Kuskoski E., Vega J., Rios J., Fett R., Troncoso A., Asuero A. Department of Analytical Chemistry, Department of Pharmaceutical and Organic Chemistry, Food Science and Toxicology, Faculty of Pharmacy, The University of Seville, 41012 Seville, Spain.2000.

Letter M. (1978). Compendio de Farmacología. Segund Edición, Offsetcolor, S.R.L., Buenos Aires. P.455-471.

Lock de Ugas O. (1994). Investigación Fitoquímica. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú pp 3 - 11.

Lock de Ugas O. y Peralta, A. (1988). Revista Latinoamericana de Química. 19,71.

Lock de Ugas O. (1994). Investigación Fitoquímica Métodos de Estudio de Productos Naturales. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú pp 6,8,10, 195-204.

Pourgholami M., Kamalinejad M., Javadi M., Majzoub S. y Sayyah M., Evaluation of the anticonvulsant activity of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* in male mice, Journal of Ethnopharmacology, Volume 64, Issue 2, 1 February 1999, Pages 167-171.

MercK,E. Reactivos de coloración Para Cromatografía en capa Fina y en papel Darnestad, RFA.

Soukup, J. (1998) Vocabulario de los Nombres Vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de los Géneros. Editorial Salesinos Lima - Perú.

Suman B., Afreena N., Krishna M., Prabhu y Pothapragada S., Antihyperglycemic effect of the fruit-pulp of *Eugenia jambolana* in experimental diabetes mellitus, Journal of Ethnopharmacology, Volume 104, Issue 3.