

Análisis fitoquímico comparativo y capacidad antioxidante de las hojas de cinco especies de *Miconia* y una de *Clidemia*

Comparative phytochemical analysis and antioxidant capacity of leaves from five species of *Miconia* and one of *Clidemia*

Jose David Cárdenas Nieto
Ingeniero de Alimentos. Magíster en Ingeniería de Alimentos.
Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia.
<https://orcid.org/0000-0002-6117-0869/>
josed.cardenas@unad.edu.co

María Isabel Páez Valencia
Ingeniera de Alimentos. Magíster en Ingeniería de Alimentos.
Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia.
<https://orcid.org/0000-0001-7134-241X/>
mariai.paez@unad.edu.co

Resumen

La familia de plantas de floración *Melastomataceae* es una de las más diversas en los ecosistemas neotropicales y representa un interesante campo de investigación en la química, particularmente por el aislamiento de metabolitos secundarios, debido a su valor medicinal y su aplicación en medicamentos. Entre los principales constituyentes de esta familia, se encuentran terpenoides, los compuestos fenólicos, los lignanos, los polifenoles, algunos flavonoides y antocianinas. El objetivo de este estudio fue realizar una caracterización fitoquímica y una evaluación comparativa de la capacidad antioxidante y el contenido de metabolitos secundarios clave en los extractos de hojas de cinco especies del género *Miconia* (*M. aeruginosa*, *M. minutiflora*, *M. sp.*, *M. sp1* y *M. sp2*) y una especie del género *Clidemia* (*C. tococoidea*).

Se prepararon extractos metanólicos a partir del material foliar seco y se procedió a cuantificar los fenoles totales, flavonoles y catequinas mediante métodos espectrofotométricos estandarizados. La actividad antioxidante se determinó con tres ensayos complementarios que evalúan diferentes mecanismos de acción: la capacidad de secuestro de radicales libres (DPPH y ABTS) y el poder reductor férrico (FRAP).

El mayor contenido de fenoles totales se encontró en *M. sp* y *M. aeruginosa*, sugiriendo una alta concentración de compuestos polifenólicos. Por otro lado, la especie *C. tocoidea* presentó la mayor concentración de catequinas y flavonoles, lo que indica un perfil fitoquímico particular. La especie *M. sp* exhibió la capacidad antioxidante más potente en los tres métodos evaluados, en correlación con su elevado contenido fenólico. Estos hallazgos destacan el potencial de estas especies, especialmente *M. sp*, como una fuente valiosa para el aislamiento de compuestos antioxidantes y el desarrollo de futuros productos nutraceuticos o fitoterapéuticos.

Palabras clave: *Miconia*; *Clidemia*; metabolitos secundarios; fenoles, capacidad antioxidante.

Abstract

The flowering plant family *Melastomataceae* is one of the most diverse in neotropical ecosystems and represents an interesting field of research in chemistry, particularly because of isolation of secondary metabolites due to their medicinal value and application in pharmaceuticals. Among the main constituents of this family are terpenoids, phenolics compounds, lignans, polyphenols, some flavonoids, and anthocyanins. The objective of this study was to conduct a phytochemical characterization and a comparative evaluation of the

antioxidant capacity and the content of key secondary metabolites in the leaf extracts of five species of the genus *Miconia* (*M. aeruginosa*, *M. minutiflora*, *M. sp*, *M. sp1* and *M. sp2*) and one species of the genus *Clidemia* (*C. tococoidea*).

Methanolic extracts were prepared from the dried leaf material, and the quantification of total phenols, flavonols, and catechins was performed using standardized spectrophotometric methods. The antioxidant activity was assessed through three complementary assays that evaluate different mechanisms of action: free radical scavenging capacity (DPPH and ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP).

The highest total phenol content was found in *M. sp* and *M. aeruginosa*, suggesting a high concentration of polyphenolic compounds. On the other hand, the species *C. tococoidea* showed the highest concentration of catechins and flavonols, indicating a particular phytochemical profile. The species *M. sp* exhibited the most potent antioxidant capacity in the three methods evaluated, which correlates with its high phenolic content. These findings underscore the potential of these species, especially *M. sp*, as a valuable source for the isolation of antioxidant compounds and the development of future nutraceutical or phytotherapeutic products.

Keywords: *Miconia*; *Clidemia*; secondary metabolites; phenols; antioxidant capacity.

Introducción

La familia *Melastomataceae* es la séptima más grande entre las plantas con flores; posee alrededor de 200 géneros y 4500 especies, agrupadas en nueve tribus que crecen en las zonas tropicales del mundo (Ocampo *et al.*, 2015). Estas especies son arbustos, hierbas o árboles

de distribución pantropical, con mayor presencia en la región occidental de América del Sur, la Guayana y el sudeste del Brasil (Plazas, 2016). En Colombia, la familia está representada por 64 géneros nativos que incluyen más de 900 especies, distribuidas en la mayoría de los ecosistemas desde el nivel del mar hasta las zonas de páramo, principalmente en los Andes, el Chocó, la Amazonia y la zona cafetera (Mendoza y Ramírez, 2006).

Estas especies se emplean con fines medicinales, ornamentales y alimenticios. En la medicina tradicional, principalmente en Asia y Sudamérica, son reconocidas por sus propiedades astringentes, hemostáticas, antibacterianas y antidiarréicas (Fierro *et al.*, 2002). Las investigaciones químicas de extractos y fracciones de especies de esta familia han determinado la presencia de metabolitos secundarios de tipo fenólico, principalmente taninos y flavonoides (Mimura *et al.*, 2004), antiocianinas (Susanti *et al.*, 2007) y terpenoides (Nono *et al.*, 2014), los cuales son los responsables de la amplia gama de actividades biológicas, tales como las actividades antioxidante, antiviral, alelopática, citotóxica, analgésica y antiinflamatoria (Ocampo *et al.*, 2015).

En el presente trabajo se realizó la caracterización fitoquímica y la cuantificación de fenoles, catequinas y flavonoles de cinco especies del género *Miconia* y una especie del género *Clidemia*. Además, se determinó la actividad antioxidante mediante los métodos de 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH); Ácido 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) y Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) en los extractos de hojas recolectadas en la Reserva Nacional Forestal Bosque de Yotoco (Valle del Cauca, Colombia).

Metodología

La presente sección describe de manera detallada los procedimientos experimentales llevados a cabo para alcanzar los objetivos de caracterización fitoquímica, cuantificación de metabolitos secundarios y evaluación de la actividad antioxidante.

Material vegetal

Se colectó el material vegetal (hojas) de seis especies de la familia *Melastomataceae*, de los géneros *Clidemia* (*C. tocozoidea* [Ct]), y *Miconia*: *M. acuminiifera* (Ma), *M. aeruginosa* (Mae); *M. caudata* (Mc); *M. prasina* (Mp) y *M. sp* (Msp). Estas especies fueron recolectadas en la Reserva Nacional Forestal Bosque de Yotoco (Valle del Cauca, Colombia), a una altura de 1200 m. s. n. m. Las especies fueron identificadas por el profesor Eugenio Escobar Manrique, de la Universidad Nacional de Colombia. De cada espécimen se depositó un testigo en el Herbario José Cuatrecasas Arumí de la Universidad Nacional, sede Palmira (Valle del Cauca, Colombia).

Extracción del material vegetal

Las hojas se secaron a 60 °C durante 24 horas. Posteriormente, se molieron y almacenaron las muestras hasta su uso. Se tomaron 200 mg de las hojas secas y molidas de cada especie, se adicionó 1,5 mL de hexano, y se llevaron a ultrasonido durante 10 min. Luego, se centrifugaron a 7000 rpm por 2 minutos. Este proceso se repitió dos veces. Se retiró la parte de hexano y se extrajo con 1 mL de CHCl_3 - CH_3OH - H_2O (2:1:1), asistido por ultrasonido durante 10 min. Después, se centrifugó a 7000 rpm por 2 minutos. Se separaron las fases metanólica y cloroformada (CHCl_3) para las pruebas fitoquímicas preliminares.

Pruebas fitoquímicas

Los diferentes extractos se sometieron a las siguientes pruebas cualitativas:

Terpenoides y esteroides

- **Prueba de Salkowski:** se diluyeron 100 μL de solución clorofórmica en 500 μL de cloroformo. Luego, se agregó 1 mL de H_2SO_4 concentrado. La presencia de esteroides se puso en evidencia con la aparición de colores amarillo o rojo.
- **Prueba de Lieberman-Burchard:** se diluyeron 100 μL de solución clorofórmica en 500 μL de cloroformo. Posteriormente, se adicionaron tres gotas de anhídrido acético ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$) y una gota de H_2SO_4 concentrado. El cambio de color de la mezcla indicó la presencia de esteroides y terpenos.

Saponinas

- **Prueba de espuma:** se diluyeron 200 μL del extracto alcohólico en 1 mL de agua. Luego, se agitó la mezcla durante 30 segundos. La presencia de saponinas se puso en evidencia por la formación de espuma persistente.

Fenoles totales

- **Prueba de cloruro férrico:** se disolvieron 100 μL del extracto alcohólico en 1 mL de extracto de metanol. Se agregaron dos gotas de una solución metanólica de FeCl_3 al 1 %. La aparición de un color verde, azul o negro confirmó la presencia de compuestos fenólicos.
- **Prueba de Folin-Ciocalteu:** se disolvieron 100 μL del extracto alcohólico en 1 mL de agua destilada. Posteriormente, se agregaron 50 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu

y 100 μL de Na_2CO_3 al 20 %. La formación de un color azul confirmó presencia de compuestos fenólicos.

Flavonoides

- **Prueba de Shinoda:** se diluyeron 200 μL del extracto alcohólico en 300 μL de etanol. Se agregó una pequeña tira de magnesio, seguida de unas gotas de HCl concentrado. La presencia de coloraciones roja, violeta, azul o verde fueron consideradas positivas para flavonoides.

Taninos

- **Taninos condensables:** se mezclaron 200 μL del extracto alcohólico, 500 μL de *n*-butanol y tres gotas de HCl concentrado. El tubo con la mezcla se calentó durante varios minutos. La formación de una coloración rojiza confirmó que la prueba fue positiva.
- **Taninos hidrolizables:** se diluyeron 200 μL del extracto alcohólico y 1 mL de metanol. Luego, se agregaron 1 mL de una mezcla etanol: CH_3COOH (1:1) y 10 mg de NaNO_2 . La formación de coloración rosada o roja, con posible efervescencia, confirmó que la prueba fue positiva.

Cumarinas

Se tomaron 200 μL de la muestra y se adicionaron tres gotas de solución alcalina de NaOH (0,06 g/mL). Sin tocar el extracto dentro del tubo, se calentó en un mechero Bunsen hasta el desprendimiento de vapores. La presencia de cumarinas en los extractos se confirmó por la formación de un color rojizo.

Análisis cuantitativo

Contenido total de Catequinas (CTC)

Una muestra diluida apropiadamente (100 μL) se mezcló con 100 μL de solución de vainillina a 15 000 ppm en metanol y 100 μL de ácido sulfúrico al 30 % (v/v) en metanol. La mezcla se incubó durante 10 min a 30 °C. Luego se dejó reposar a temperatura ambiente y se agitó en un vortex por 30 s. Posteriormente, se realizó la lectura de la absorbancia a 515 nm. Se trazó una curva de calibración estándar de catequina (0,5-512 mgL^{-1}). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de catequina por gramo de extracto seco (mg EC/g ES).

Contenido total de flavonoles (CTFI)

Una muestra diluida apropiadamente (100 μL) se mezcló con 100 μL de tricloruro de aluminio al 2 % (p/v) en metanol. La mezcla se agitó en un vortex por 30 s y se realizó la lectura de la absorbancia a 450 nm. Se trazó una curva de calibración estándar de rutina (0,5-512 mgL^{-1}). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de rutina por gramo de extracto seco (mg ER/g ES).

Contenido total de fenoles (CTF)

Una muestra diluida apropiadamente (60 μL) se mezcló con 60 μL de reactivo de Folin-Ciocalteau. Luego, se agregaron 180 μL de solución de Na_2CO_3 a la mezcla. Esta se incubó durante 45 min a 60 °C, se dejó reposar a temperatura ambiente y se agitó en un vortex por 1 min. Posteriormente, se realizó la lectura de la absorbancia a 750 nm. Se trazó una curva de calibración estándar de ácido gálico (1-1024 mgL^{-1}). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EAG/g ES).

Capacidad antioxidante

- **DPPH**

Una muestra diluida apropiadamente (60 µL) se mezcló con 140 µL de una solución de DPPH a 100 ppm preparada en metanol. La mezcla se incubó durante 30 min a temperatura ambiente, se dejó reposar y se agitó en un vortex por 1 min. Posteriormente, se realizó la lectura de la absorbancia a 515 nm. Se trazó una curva de calibración estándar de trolox (0,004-4,09 mM).

La inhibición del radical DPPH se calculó empelando la ecuación 1.

$$\text{Inhibición DPPH (\%)} = \left[\frac{A_a - A_m}{A_a} \right] \times 100 \%$$

Donde A_a es la absorbancia del DPPH sin muestra y A_m es la absorbancia correspondiente a la muestra.

La capacidad antioxidante se calculó con base en la curva de calibración de trolox, y se expresó como milimoles equivalentes de trolox por gramo de extracto seco (mmET/gES).

- **FRAP**

Una muestra diluida apropiadamente (60 µL) se mezcló con 180 µL de agua destilada y 60 µL del reactivo de FRAP. La mezcla se incubó durante 30 min a temperatura ambiente, se dejó reposar y se agitó en un vortex durante 1 min. Posteriormente, se realizó la lectura de la absorbancia a 630 nm. Se trazó una curva de calibración estándar de sulfato ferroso (1024-1 mM).

La capacidad antioxidante se calculó con base en la curva de calibración del sulfato ferroso y se expresó como milimoles de ion ferroso por gramo de extracto seco ($\text{mmolFe}^{2+}/\text{gES}$).

- **ABTS**

Una muestra diluida apropiadamente ($60 \mu\text{L}$) se mezcló con $240 \mu\text{L}$ de una solución de ABTS. La mezcla se agitó en un vortex por un minuto y la absorbancia se leyó a 750 nm . Se trazó una curva de calibración estándar de trolox ($0,004\text{-}4,09 \text{ mM}$).

La inhibición del radical ABTS se calculó empelando la ecuación 2.

$$\text{Inhibición ABTS (\%)} = \left[\frac{A_b - A_m}{A_b} \right] \times 100 \%$$

Donde A_b es la absorbancia del ABTS sin muestra y A_m es la absorbancia correspondiente a la muestra.

La capacidad antioxidante se calculó con base en la curva de calibración de trolox y se expresó como milimoles equivalentes de trolox por gramo de extracto seco (mmET/gES).

Resultados

Pruebas fitoquímicas

En la tabla 1 se resumen los resultados de las pruebas fitoquímicas para los extractos de las seis especies. De acuerdo con los resultados, se observó variabilidad en presencia de diferentes grupos de metabolitos secundarios en las especies de estudio. La presencia de terpenos, esteroides y fenoles se registró en todas las muestras. Por su parte, *M. prasina* y *M. accuminifera* fueron las especies que presentaron la menor presencia de metabolitos secundarios.

Tabla 1. Resultados de las pruebas fitoquímicas preliminares

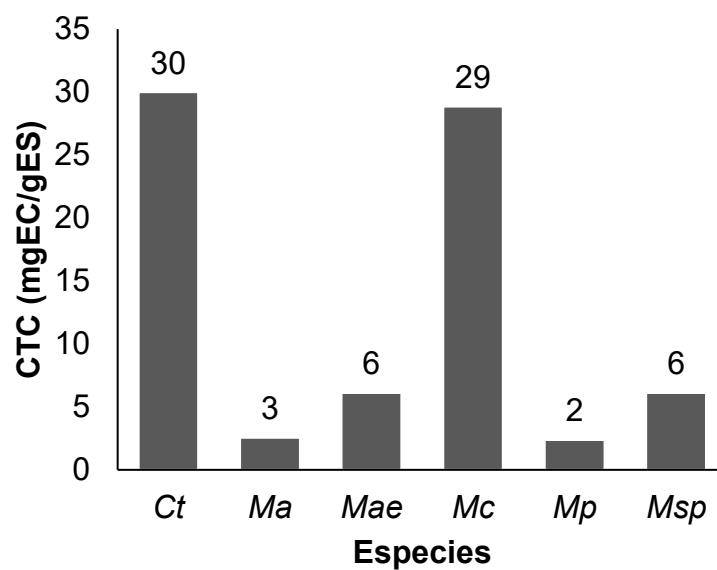
Metabolito	Prueba	Ct	Ma	Mae	Mc	Mp	Msp
Terpenoides y esteroides	<i>Salkowski</i>	+	+	-	-	-	+
	<i>Lieberman-Bouchard</i>	+	+	+	+	+	+
Saponinas	<i>Espuma</i>	++	++	++	++	-	+
Fenoles totales	<i>Cloruro férrico</i>	+	+	+	+	-	+
	<i>Folin-Ciocalteu</i>	+	+	+	+	+	+
Flavonoides	<i>Shinoda</i>	+/-	-	-	-	+	++
Taninos	<i>Condensados</i>	+	-	+/-	++	-	++
	<i>Hidrolizables</i>	-	-	-	+	-	-
Cumarina	<i>Fluorescencia</i>	+	+	+	+/-	-	+

Nota. Convenciones: (-) Negativo, (+/-) Dudosa, (+) Positivo, (++) Francamente positivo.

Fuente: elaboración propia.

El contenido de catequinas obtenido en las seis especies estudiadas se presenta en la figura 1. Los resultados mostraron que el género *Clidemia* obtuvo el mayor contenido de este metabolito secundario en comparación con *Miconia*. Los valores variaron en un rango de 2 a 30 gEC/gES. Las especies *M. prasina* y *M. accuminifera* exhibieron los valores más bajos, mientras que *M. caudata* presentó el mayor contenido de catequinas dentro del género *Miconias*.

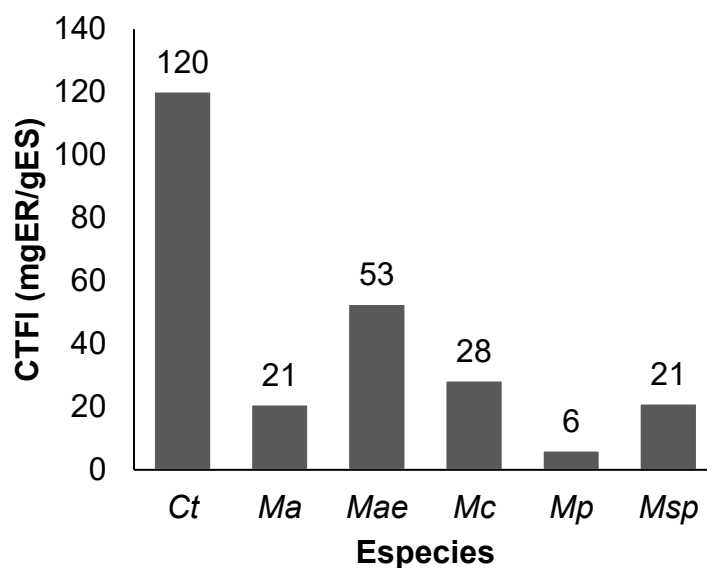
Figura 1. Contenido de catequinas



Fuente: elaboración propia.

En la figura 2 se observa el contenido de flavonoles. Los valores oscilaron entre 6 a 120 mgER/gES, siendo el género *Clidemia*, el que presentó el mayor valor, con un comportamiento análogo al observado en el contenido de catequinas. En cuanto a las especies de *Miconias*, *M. prasina* obtuvo el menor contenido de flavonoles, mientras que *M. aeruginosa* presentó el mayor valor de este metabolito.

Figura 2. Contenido de flavonoles



Fuente: elaboración propia.

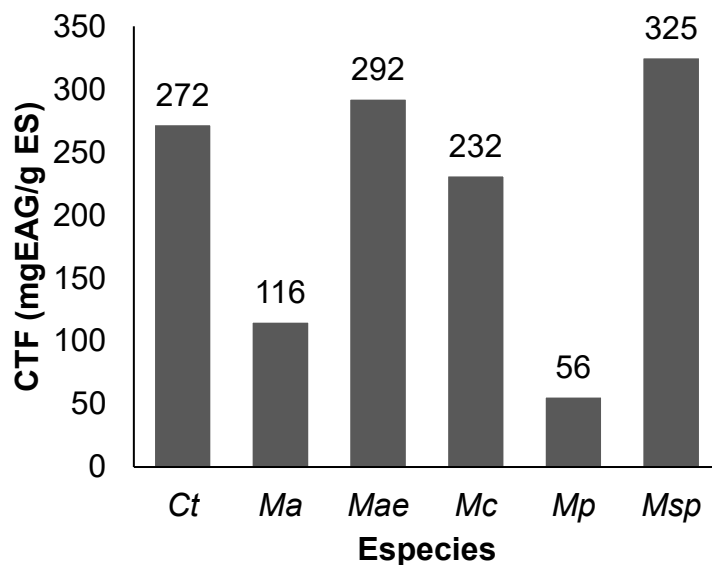
En la figura 3 se muestran los resultados del contenido de fenoles, los cuales oscilaron entre 56 a 325 mg EAG/g ES. En el género *Miconia*, las especies *M. prasina* y *M. accuminifera* obtuvieron los valores más bajos, mientras que *M. sp* y *M. aeruginosa* presentaron los mayores contenidos de fenoles. Plazas (2016) reportó que la especie *M. sp* mostró una mayor concentración de fenoles en las hojas, en comparación con los frutos de la planta.

Por otra parte, se observa que el alto contenido de fenoles totales de *M. sp*, no se atribuye a la presencia de catequinas ni flavonoles, dado que ambos compuestos, representan el 8 % de los fenoles totales. Por lo tanto, su elevado contenido podría deberse a otros compuestos fenólicos. En cuanto al género *Clidemia*, este presentó un valor superior al promedio general de las especies *Miconia* (204 mg EAG/g ES).

Los estudios realizados en las especies del género *Miconia* han reportado una importante presencia de metabolitos fenólicos, los cuales pueden estar relacionados con

actividades biológicas como antibacterianas, antioxidantes, analgésicas y citotóxica (Pieroni *et al.*, 2011).

Figura 3. Contenido de fenoles totales

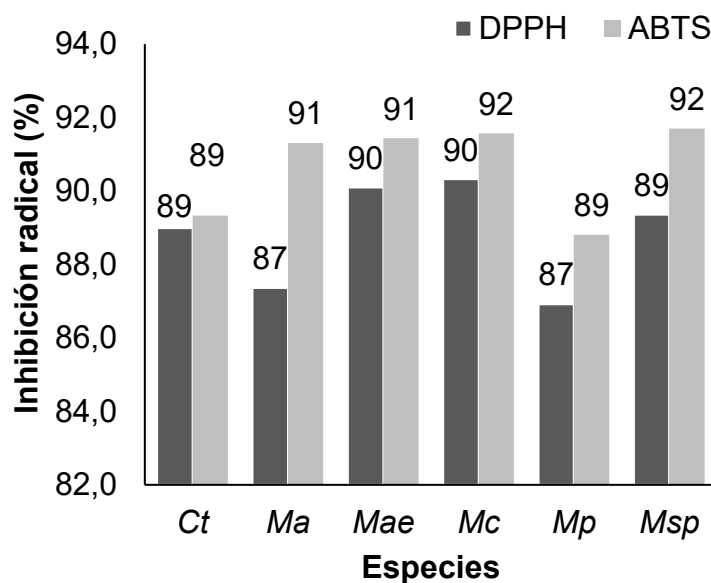


Fuente: elaboración propia.

Capacidad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó mediante las metodologías de DPPH, ABTS y FRAP. En el caso de los dos primeros métodos, se expresó el porcentaje de inhibición (figura 4), el cual indica la capacidad antioxidante para neutralizar los radicales DPPH y ABTS, respectivamente. Por su parte, el método FRAP mide la reducción del ion férrico (Fe^{3+}) a ion ferroso (Fe^{2+}). En la tabla 2, se observa la capacidad antioxidante de las seis especies evaluadas.

Figura 4. Inhibición de los radicales DPPH y ABTS



Fuente: elaboración propia.

Los resultados indicaron que el género *Miconia* presentó un valor promedio de 88 % de inhibición del radical DPPH, menor al obtenido por *Clidemia*. En cambio, en la inhibición del radical ABTS se observó el comportamiento opuesto: *Miconia* obtuvo un promedio de 91 %, mientras *Clidemia* alcanzó 89 % de inhibición.

Tabla 2. Capacidad antioxidante mediante DPPH, ABTS y FRAP

Muestra	DPPH (mmol ET/g ES)	ABTS (mmol ET/g ES)	FRAP (mmoles Fe ²⁺ /g ES)
<i>Ct</i>	1166,1	555,4	1216
<i>Ma</i>	795,6	394,5	795
<i>Mae</i>	879,3	424,0	1664
<i>Mc</i>	668,5	322,1	1206
<i>Mp</i>	190,6	92,3	343
<i>Msp</i>	1585,5	773,0	2615

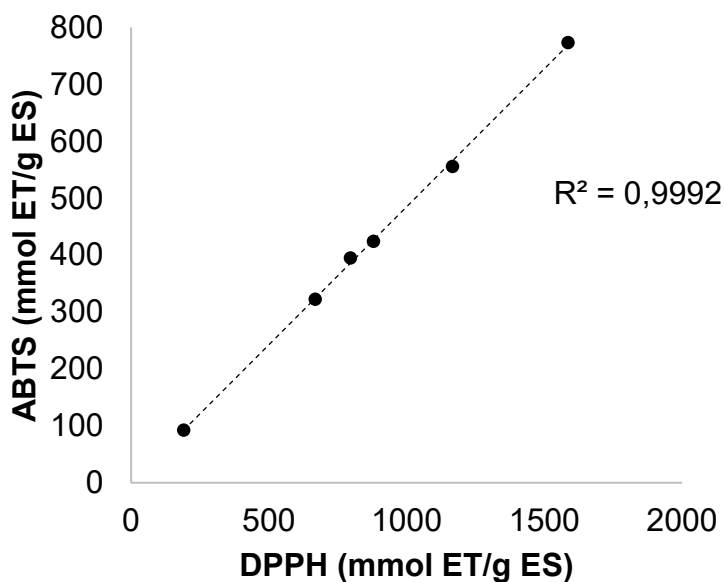
Fuente: elaboración propia.

Los resultados obtenidos mediante los tres métodos mostraron que la mayor capacidad antioxidante se presentó en *M. sp.*, mientras que *M. prasina* registró el valor más bajo. Estos resultados son coherentes con el contenido de fenoles totales (figura 3), en los

que se presentó la misma tendencia entre ambas especies. El género *Clidemia* exhibió el segundo mayor valor de capacidad antioxidante en los métodos DPPH y ABTS, mientras que en FRAP presentó el tercer valor más alto.

Finalmente, la diferencia entre las tendencias obtenidas por los métodos de capacidad antioxidante podría reflejarse en la correlación entre las metodologías. Para DPPH y ABTS, se obtuvo un $R^2 > 0,990$ (figura 5). Por su parte, la correlación obtenida entre DPPH y FRAP, y entre ABTS y FRAP, fue de $R^2 = 0,784$ y $R^2 = 0,786$, respectivamente (figuras no mostradas).

Figura 5. Correlación de los métodos DPPH y ABTS



Fuente: elaboración propia.

Conclusiones

Los flavonoles y catequinas representan, en promedio, aproximadamente un 27 % del total de fenoles en las hojas del género *Miconia*, excepto en la especie *M. sp*, en la cual estos

compuestos constituyen solo el 8 %. Por su parte, en *Clidemia* ambos metabolitos representan alrededor de 55 % del contenido total de fenoles. El porcentaje restante de compuestos fenólicos que no pertenecen al tipo flavonoide podría corresponder a derivados de taninos o cumarinas.

Por otra parte, las capacidades antioxidantes de los extractos vegetales no dependen únicamente de la composición química del extracto, sino también de las condiciones de la prueba utilizada. El género *Miconia* presentó los mayores valores de capacidad antioxidante en los tres métodos evaluados, en comparación con *Clidemia*.

Referencias

- Fierro, A. F., Fernández, D., y Quintana, C. (2002). Usos de melastomataceae en el Ecuador. *SIDA, Contributions to Botany*, 20(1), 233-260.
- Mendoza, H., y Ramírez, B. (2006). *Guía ilustrada de géneros de Melastomataceae y Memecylaceae de Colombia*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Mimura, M. R. M., Salatino, A., y Salatino, M. L. F. (2004). Distribution of flavonoids and the taxonomy of *Huberia* (Melastomataceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 32(1), 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2003.08.001>
- Nono, R. N., Barboni, L., Teponno, R. B., Quassinti, L., Bramucci, M., Vitali, L. A., Petrelli, D., Lupidi, G., y Tapondjou, A. L. (2014). Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory activities and phytoconstituents of extracts from the roots of *Dissotis thollonii* Cogn. (Melastomataceae). *South African Journal of Botany*, 93, 19-26. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.03.009>

- Ocampo, D. M., Valverde, C. L., Colmenares, A. J., e Isaza, J. H. (2015). Fenoles totales y actividad antioxidante en hojas de dos especies colombianas del género *Meriania* (melastomataceae). *Revista Colombiana de Química*, 43(2), 41-46. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v43n2.53124>
- Pieroni, L. G., De Rezende, F. M., Ximenes, V. F., y Dokkedal, A. L. (2011). Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *miconia albicans* (Sw.) triana leaves. *Molecules*, 16(11), 9439-9450. <https://doi.org/10.3390/molecules16119439>
- Plazas González, E. A. (2016). Tamizaje químico y evaluación de la actividad antioxidante de hojas y frutos de tres especies del género *Miconia* (Melastomataceae). *Revista Ciencia: Desarrollo e Innovación*, 2(1), 43-48.
- Susanti, D., Sirat, H. M., Ahmad, F., Ali, R. M., Aimi, N., y Kitajima, M. (2007). Antioxidant and cytotoxic flavonoids from the flowers of *Melastoma malabathricum* L. *Food Chemistry*, 103(3), 710-716. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.011>