

EN LA BÚSQUEDA DE ESTRUCTURAS PRIVILEGIADAS: AISLAMIENTO DE METABOLITOS SECUNDARIOS A PARTIR DEL EXTRACTO HEXÁNICO DE *Salvia curviflora* (LAMIACEAE)

Celeste Guadalupe Escobar Páramo ^a, Chrystyan Iván Bustos Gómez ^a, David Cruz
Cruz ^{a*}, Clarisa Villegas Gómez ^{a*}

^a Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato Gto. 36050, México. cg.escobarparamo@ugto.mx; clarisa.villegas@ugto.mx

Resumen

Salvia curviflora es una planta silvestre originaria del centro de México, principalmente en los límites entre Querétaro y Guanajuato, esta es utilizada en la Medicina Tradicional Mexicana para tratar problemas de reumatismo, úlceras y mordeduras. A pesar de su uso empírico, no existen estudios fitoquímicos previos sobre esta especie. En este trabajo se realizó la separación preliminar de los compuestos presentes en el extracto hexánico mediante cromatografía en columna con sílica gel y monitoreo mediante cromatografía en capa fina. De la separación inicial, se obtuvieron 14 fracciones (A–N), de las cuales 10 de ellas, fueron sometidas a una segunda purificación, logrando aislar diferentes compuestos de interés. Debido al perfil quimiotaxonómico de la especie y a las características físicas y químicas de las fracciones obtenidas, se presume la presencia de metabolitos secundarios del tipo terpenico y derivados de compuestos fenólicos como flavonoides. Este estudio proporciona una base para futuras investigaciones orientadas a la caracterización química y el potencial terapéutico de *Salvia curviflora*.

Palabras clave: Medicina Tradicional Mexicana; *Salvia curviflora*; Familia Lamiaceae; Metabolitos Secundarios; Plantas Medicinales Mexicanas.

IN THE SEARCH FOR PRIVILEGED STRUCTURES: ISOLATION OF SECONDARY METABOLITES FROM THE HEXANE EXTRACT OF *SALVIA CURVIFLORA* (LAMIACEAE)

Abstract

Salvia curviflora is a wild plant native to central Mexico, primarily distributed along the border between the states of Querétaro and Guanajuato. It has been traditionally used in Mexican folk medicine for the treatment of rheumatism, ulcers, and bites. Despite its empirical applications, no prior phytochemical studies have been reported for this species. In the present study, a preliminary separation of the constituents in the hexane extract was performed using column chromatography on silica gel, with fraction monitoring by thin-layer chromatography (TLC). The initial separation yielded 14 fractions (A–N), ten of which underwent further purification, resulting in the isolation of several compounds of potential interest. Based on the species' chemotaxonomic profile and the physicochemical characteristics of the fractions obtained, the presence of terpenoid-type secondary metabolites and phenolic derivatives such as flavonoids is suggested. This work provides a foundation for future studies focused on the chemical characterization and therapeutic potential of *Salvia curviflora*.

Keywords: Mexican Traditional Medicine; *Salvia curviflora*; Lamiaceae Family; Secondary Metabolites; Mexican Medicinal Plants.

1. Introducción

Desde tiempos ancestrales los productos naturales como: plantas, animales y minerales han sido una fuente de tratamientos para enfermedades en las cuales se ha basado la medicina moderna. La Medicina Tradicional se puede definir como “el conjunto de conocimientos, habilidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, utilizados para el mantenimiento de la salud y la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas y mentales” (OMS, 2023).

En México, la Medicina Tradicional es una práctica habitual en muchas entidades indígenas del país. De acuerdo con la Secretaría de Salud, el 80% de la población mexicana ha optado por el ejercicio y uso de la herbolaria (SEMARNAT, 2022). De acuerdo a la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), se estima que en México, existe un aproximado de 4,500 especies de plantas medicinales, donde en el herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social, figuran 3,000 especies con atributos medicinales, representando el 15% del total de la flora mexicana, precisando que sólo se

ha hecho un análisis farmacológico del 5% del total de estas plantas. Cabe señalar que, 250 se comercializan de manera cotidiana, el 85% son extraídas del medio silvestre sin planes de manejo sustentable y el 80% de la población mexicana ha hecho uso de ella. SEMARNAT (2022). Siendo los tratamientos herbarios la forma más popular de medicina tradicional.

El género *Salvia*, es el más diverso dentro de la familia de la menta (Lamiaceae), son conocidas por sus usos medicinales y culinarios, con más de 900 especies distribuidas en regiones templadas y tropicales del mundo, principalmente en América, el Mediterráneo y Asia occidental (Heinrich y col., 2012). Las especies de *Salvia* han sido ampliamente utilizadas en la medicina tradicional de diversas culturas debido a su variedad de propiedades terapéuticas, incluyendo efectos antiinflamatorios, antimicrobianos, antioxidantes, digestivos y neuroprotectores (Kamatou, 2013).

Desde la antigüedad, especies como *Salvia officinalis* (salvia común) y *Salvia miltiorrhiza* (danshen), han sido objeto de extensos estudios etnofarmacológicos y fitoquímicos, destacando por su contenido en

aceites esenciales, flavonoides, diterpenos abietánicos (como las tanshinonas) y ácidos fenólicos (como el ácido rosmarínico y salvianólico B), los cuales presentan múltiples actividades biológicas de interés farmacológico (Figura 1) (Atanasov y col., 2021).

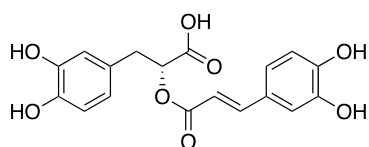


Figura 1. Ácido rosmarínico (ácido fenólico).

En contraste, *Salvia curviflora*, una especie silvestre originaria del centro de México y recolectada en zonas como el Cerro El Zamorano (Querétaro/Guanajuato), no ha sido estudiada desde el punto de vista fitoquímico ni farmacológico, a pesar de sus antecedentes de uso en la Medicina Tradicional Mexicana para el tratamiento de padecimientos como el reumatismo, la neumonía, la malaria, las úlceras, y las mordeduras de insectos o víboras. Esta falta de información científica representa una oportunidad relevante para explorar su potencial como fuente de metabolitos secundarios bioactivos, especialmente considerando que especies emparentadas, han mostrado perfiles químicos complejos y

prometedores en la búsqueda de nuevas moléculas terapéuticas.

En este contexto, los extractos vegetales representan una fuente valiosa de compuestos bioactivos, ya que concentran una mezcla compleja de metabolitos primarios y secundarios con potencial terapéutico. Se obtienen a partir de drogas vegetales usando disolventes adecuados (generalmente agua, alcohol o mezclas hidroalcohólicas). Pueden tener una consistencia líquida, semisólida o sólida (Heinrich y col., 2012).



Figura 2. *Salvia curviflora* (Lamiaceae).
iNaturalist México (s.f.)

En el metabolismo vegetal, los metabolitos primarios como aminoácidos, azúcares, nucleótidos y lípidos son esenciales para el crecimiento y funcionamiento celular y están presentes en todas las plantas. Sin embargo, estas también producen una amplia variedad de metabolitos secundarios, que no intervienen directamente en procesos vitales como la fotosíntesis o la síntesis de macromoléculas, pero que desempeñan

funciones ecológicas relevantes tales como, la defensa contra patógenos, la atracción de polinizadores o la protección frente al estrés ambiental. Esta diversidad química convierte a los metabolitos secundarios en una fuente clave de compuestos bioactivos con potencial farmacológico (Ávalos-García y Pérez-Urria Carril, 2009).

Los metabolitos secundarios se agrupan en cuatro clases principales: terpenos, compuestos fenólicos, glucósidos y alcaloides.

Los terpenos o terpenoides es el grupo más numeroso de metabolitos secundarios, suelen ser insolubles en agua y derivan todos de ellos la unión de isopreno (5 átomos de carbono). La ruta biosintética de estos compuestos da lugar a metabolitos primarios (hormonas, carotenoides, plastoquinonas, ubiquinonas y esteroides), así como a secundarios de importancia en el crecimiento y supervivencia de la planta; se sintetizan por dos rutas: ácido mevalónico o metileritrol fosfato (MEP), los cuales forman isopentenil difosfato (IPP) (Ávalos-García y Pérez-Urria Carril, 2009).

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el

nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo. Existen dos rutas básicas implicadas en la biosíntesis de compuestos fenólicos: la ruta del ácido shiquímico, la ruta principal en plantas y la ruta del ácido malónico importante fuente de fenoles en hongos y bacterias (Ávalos-García y Pérez-Urria Carril, 2009).

Los glicósidos, tienen un enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardiacos y glicósidos cianogénicos. Una cuarta familia, los glucosinolatos, se incluyen en este grupo debido a su estructura similar a los glicósidos (Ávalos-García y Pérez-Urria Carril, 2009).

Mientras que los alcaloides son una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios, cuyas características principales son: solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno y exhiben actividad biológica. La mayoría son heterocíclicos, aunque algunos son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos), se encuentran en el 20% aproximadamente de las plantas

vasculares. En humanos, los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas, la mayoría de ellas como consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides son muy tóxicos, sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como: relajantes musculares, tranquilizantes, antitusivos o analgésicos (Ávalos-García y Pérez-Urria Carril, 2009).

Se sintetizan a partir de lisina, tirosina y triptófano, aunque algunos como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina.

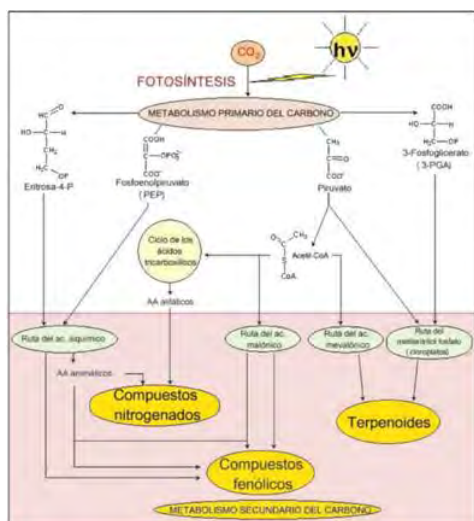


Figura 2. Elementos del metabolismo del carbono en relación con las rutas de síntesis de metabolitos secundarios (Ávalos-García y Pérez-Urria Carril, 2009).

2. Objetivo

Se realiza la separación y el aislamiento de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hexánico de *Salvia curviflora* mediante técnicas de cromatografía en columna y en placa fina.

3. Metodología

Las hojas de *Salvia curviflora* fueron colectadas en el Cerro el Zamorano, en los límites entre Querétaro y Guanajuato por la Dra. Rosa E. Norma del Río de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y clasificada por la botánica de dicha institución. Las hojas secas y trituradas fueron maceradas en solventes orgánicos en orden creciente de polaridad (hexano, diclorometano y metanol) y evaporado a presión reducida, obteniendo como resultado tres extractos: hexánico, diclorometánico y metanólico en un peso total de 8.7 g, 26.1 g y 62.34 g respectivamente (Figura 3).

En este artículo solo se mencionará el procedimiento realizado con el extracto hexánico

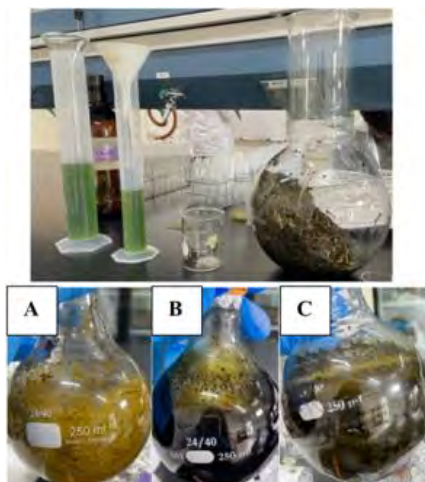


Figura 3. Extractos de *Salvia curviflora* en diferentes solventes. (A) Extracto hexánico. (B) Extracto diclorometánico. (C) Extracto metanólico.

3.1. Preparación del punto de aplicación.

Para la preparación del punto de aplicación del extracto hexánico que sería sometido a cromatografía en columna, con un peso de 8.64 g.

Este extracto fue re-disuelto en diclorometano y transferido gradualmente a un mortero. Una vez en el mortero, se añadió sílica gel (SiO_2), se mantuvo en agitación la mezcla a temperatura ambiente, mientras se evaporaba el diclorometano, facilitando la formación de una pasta más seca.

A medida que el solvente se eliminaba, la mezcla adquirió una consistencia polvosa. Finalmente, el material fue triturado con un pistilo hasta obtener un polvo fino y

homogéneo, adecuado para su aplicación en la columna cromatográfica.



Figura 4. Punto de aplicación para la columna preliminar.

3.2. Selección y preparación de la columna cromatográfica preliminar.

Antes de montar la columna cromatográfica, se realizaron pruebas preliminares de cromatografía en capa fina (TLC), para evaluar el sistema de elución más favorable para la separación del extracto hexánico. Se estableció utilizar un gradiente de elución que iniciara con 100% hexano como fase móvil e incrementara gradualmente la polaridad con acetato de etilo durante el proceso de separación.

Considerando la masa del punto de aplicación (aproximadamente 8.64 g), se optó por utilizar una columna cromatográfica de mayor diámetro, con el fin de favorecer una separación más eficiente de los compuestos. La fase estacionaria empleada fue sílica gel (SiO_2), empacada cuidadosamente

alcanzando una altura aproximada de 15 cm. Durante el empackado, se utilizó hexano como solvente para facilitar la sedimentación uniforme del material y evitar la formación de burbujas o canales, los cuales podrían comprometer la resolución de la separación.

Una vez empackada la columna, se añadió el punto de aplicación, procurando lavar cuidadosamente las paredes del tubo para asegurar la completa transferencia del compuesto. Posteriormente, se colocó una capa de algodón en la parte superior para proteger la superficie de la fase estacionaria y evitar su alteración durante el proceso de elución.



Figura 5. Columna preliminar.

3.3. Monitoreo y aislamiento de fracciones.

La separación se llevó a cabo recolectando las fracciones en matraces de 50 mL, hasta obtener un total de 308 fracciones, utilizando una fase móvil basada en un sistema de

gradiente de polaridad. Se inició con 100% hexano, seguido de mezclas binarias de hexano: acetato de etilo en proporciones de 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, hasta llegar finalmente a 100% acetato de etilo.

Cada fracción fue monitoreada mediante cromatografía en capa fina (TLC), para observar la presencia y el desplazamiento de compuestos. Este control permitió determinar con mayor precisión los momentos en los que comenzaban a eluir nuevos compuestos y así agrupar las fracciones con perfiles similares. Como revelador cromatográfico se empleó vapores de yodo, ya que bajo luz ultravioleta no se detectaba señal alguna.

Una vez agrupadas las fracciones que contenían compuestos similares, se procedió a la evaporación del disolvente en un rotavapor (Yamato®, RE-301), con el fin de obtener los extractos concentrados correspondientes.



Figura 6. Evaporación de las fracciones utilizando un rota vapor para separar el solvente.

Estos extractos se identificaron alfabéticamente como fracciones A-N, las cuales fueron posteriormente sometidas a una segunda fase de purificación mediante columnas cromatográficas más delgadas, dado que el volumen de aplicación era considerablemente menor que el inicial. Estas columnas preliminares permitieron obtener material más purificado para análisis posteriores.

Como perspectiva, los metabolitos secundarios aislados serán analizados por RMN ^1H y ^{13}C .

4. Resultados

En la siguiente tabla se presentan las fracciones recolectadas tras la separación mediante columna cromatográfica preliminar, organizadas de acuerdo con el sistema de elución utilizado, el cual varió en polaridad desde 100% hexano, hasta 100% acetato de etilo. Estas fracciones fueron agrupadas en extractos identificados con las letras A - N, con base en su perfil cromatográfico observado por TLC.



Figura 7. Extractos obtenidos de la columna preliminar.

Tabla 1. Fracciones colectadas en la columna preliminar respecto a su polaridad.

Extracto	Polaridad	Fracciones
A	100% Hexano	14-29
B	100% Hexano	30-52
C	100% Hexano	74-78
D	100% Hexano	79-104
E	9:1	106-116
F	9:1	117-131
G	9:1	132-157
H	9:1	158-194
I	9:1	195-226
J	8:2	227-235
K	8:2	236-266
L	7:3	267-275
M	6:4	276-297
N	100% AcOEt	298-308

De estas fracciones, aquellas correspondientes a las letras A - J fueron seleccionadas para continuar con una etapa de purificación adicional mediante columnas más delgadas. Como resultado de esta segunda separación, se obtuvieron varios compuestos aislados, los cuales fueron codificados según el extracto y el sistema de elución con el que se obtuvieron.

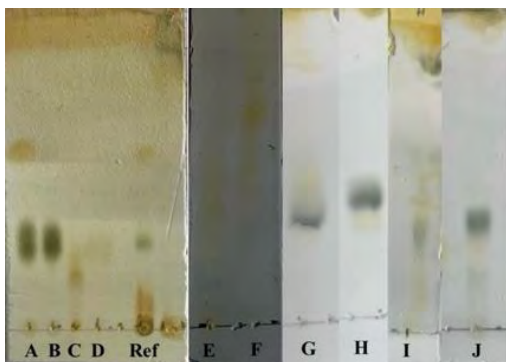


Figura 8. TLC de los diferentes extractos obtenidos. En un sistema: 100% Hexano (A, B, C, D), 9:1 (E, F, G, H), 8:2 (I, J).

En algunos casos, como el extracto E, se presentaron problemas técnicos como la rápida solidificación del extracto, lo que provocó el taponamiento de la columna; sin embargo, fue posible obtener dos compuestos (1B y 2B) que se volverán a procesar para lograr una separación más fina. El extracto F, al cristalizar espontáneamente, fue reservado para análisis por resonancia magnética nuclear (RMN), ya que presentó características prometedoras. Los compuestos C y D se descartaron ya que se definieron como inter-fases sin valor fitoquímico aparente.

Tabla 2. Compuestos aislados.

EXTRACTOS					
A-B	E	G	H	I	J
1A	1B	3B	5B	7B	1C
2A	2B	4B	6B	6B	2C
3A					

Sistema de solventes utilizados en cada compuesto aislado: A (100% Hexano), B (9:1), C (8:2).

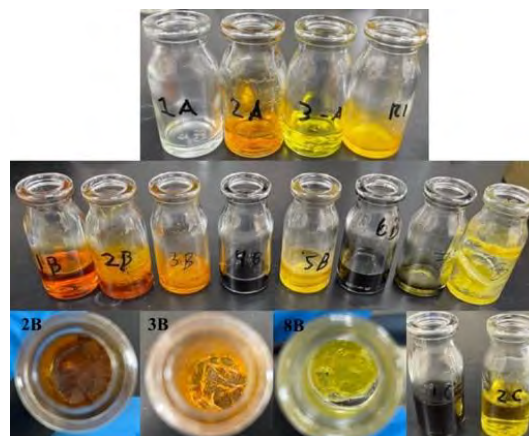


Figura 9. Diferentes compuestos aislados, obtenidos de los extractos preliminares.

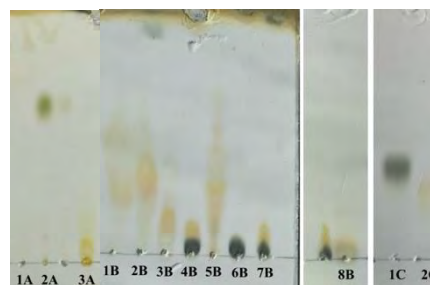


Figura 10. TLC de los diferentes compuestos aislados. En un sistema: 100% Hexano (1A, 2A, 3A), 9:1 (1B, 2B, 3B, 4B, 5B, 6B, 7B, 8B), 8:2 (1C, 2C).

5. Discusión

Dado que el presente estudio se enfocó en el aislamiento preliminar de metabolitos secundarios. Aunque no se cuenta con análisis estructurales (RMN o espectrometría de masas), la caracterización fisicoquímica de los extractos permite proponer hipótesis

fundamentadas sobre la naturaleza de los compuestos aislados.

Las primeras fracciones eluidas con 100% hexano (A y B) mostraron una pigmentación amarillo-anaranjada, típica de ciertos compuestos fenólicos poco polares como flavonoides no glicosilados, quinonas simples y diterpenos oxigenados. Estas tonalidades pueden atribuirse a la presencia de sistemas conjugados y anillos aromáticos sustituidos, que permiten la absorción en el rango visible (400–500 nm), generando coloración desde amarilla hasta rojo ladrillo (Harborne y Williams, 2000). Además, el hecho de que estas fracciones mostraran reactividad con vapores de yodo, pero no fluorescencia bajo luz UV puede sugerir una baja densidad de cromóforos aromáticos extensos, o estructuras con baja conjugación π , lo cual es coherente con compuestos parcialmente oxidados o alifáticos insaturados (Wagner y Bladt, 1996).

Por otro lado, las fracciones obtenidas en etapas posteriores del gradiente (por ejemplo, relación 8:2 o 7:3 hexano: acetato de etilo) presentaron pigmentaciones verde-oscuro o negro, con aspecto físico oleoso o resinoso. Este perfil es compatible con la presencia de terpenos de tipo ácido graso (lipófilos) o

compuestos triterpénicos apolares. Estos metabolitos son típicamente solubles en disolventes no polares, no presentan fluorescencia bajo UV y suelen aislarse en fracciones iniciales o intermedias de columnas con fase móvil de baja polaridad. (Zhang y col., 2011); (Santos y col., 2013). Además, se ha reportado que especies del género *Salvia* la presencia de diterpenos abietánicos y triterpenos que exhiben características similares (Barrajon-Catalan y col., 2011).

Aunque no es posible confirmar la identidad estructural de los metabolitos en esta etapa, los datos obtenidos permiten inferir la coexistencia de compuestos de naturaleza lipofílica y fenólica. Esta aproximación preliminar puede servir de base para estudios posteriores de elucidación estructural mediante RMN y espectrometría de masas, así como para análisis bioactivos que exploren el potencial farmacológico de los extractos obtenidos.

6. Conclusiones

El proceso cromatográfico aplicado permitió el fraccionamiento efectivo del extracto hexánico de *Salvia curviflora*, a pesar de implicar un procedimiento largo y repetitivo debido al alto volumen de muestra. El uso de

una columna de mayor diámetro favoreció la separación inicial de un amplio rango de compuestos, mientras que una segunda purificación en columnas más delgadas permitió el aislamiento más específico de metabolitos individuales. Las pruebas de polaridad y el monitoreo de las fracciones de TLC fueron fundamentales para optimizar el proceso

La cromatografía en columna es una herramienta esencial en el estudio fitoquímico, ya que permite separar mezclas complejas en componentes individuales con base en su polaridad. Su capacidad para aislar compuestos es esencial para su posterior caracterización química y evaluación biológica, lo cual no podría lograrse con métodos más simples de extracción.

Este estudio representa un primer acercamiento al perfil químico de *S. curviflora* y sienta las bases para investigaciones futuras orientadas a la identificación estructural y evaluación bioactiva de sus metabolitos secundarios.

Referencias bibliográficas

Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., y Supuran, C. T. (2021). Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(3), 200–216. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>

Ávalos García, A., y Pérez-Urria Carril, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, 2(3), 119-145.

Barrajón-Catalán, E., Fernández-Arroyo, S., Roldán, C., Guillén, E., Saura, D., Segura-Carretero, A., y Micol, V. (2011). A systematic study of the polyphenolic composition of *Salvia* species from the Lamiaceae family by LC–DAD–ESI–MS/MS analysis. *Food Chemistry*, 127(3), 1326–1333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.077>

Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., y Williamson, E. (2012). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy* (2nd ed.). Elsevier.

Harborne, J. B., y Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481–504.

[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00235-1)

iNaturalist México (s.f.). *Salvia curviflora* Benth.

https://mexico.inaturalist.org/taxa/320306-Salvia-curviflora/browse_photos

Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru. (2023). *FARMACOGNOSIA* / Educación biotransversal. Biotransversal. <https://www.biotransversal.com/farmacognosia>

Kamatou, G. P. P., Makunga, N. P., Ramogola, W. P. N., y Viljoen, A. M. (2013). South African *Salvia* species: a review of biological activities and phytochemistry. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(3), 664–672.

Organización Mundial de la Salud. (2023, 9 de agosto). *Medicina tradicional [Preguntas y respuestas]*. <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/traditional-medicine>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2022, 18 de enero). *Plantas*

medicinales de México. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/plantas-medicinales-de-mexico>

Santos, M. R. V., Moreira, F. V., Fraga, B. P., Souza, D. P., Bonjardim, L. R., y Quintans-Júnior, L. J. (2013). Cardiovascular effects of monoterpenes: A review. *Molecules*, 18(6), 6907–6924.

<https://doi.org/10.3390/molecules18066907>

Wagner, H., y Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer.

Wang, X., Morris-Natschke, S. L., y Lee, K. H. (2007). New developments in the chemistry and biology of the bioactive constituents of Tanshen (*Salvia miltiorrhiza*). *Medicinal Research Reviews*, 27(1), 133–148. <https://doi.org/10.1002/med.20090>

Zhang, Q., Ye, M., y Huang, J. (2011). Characterization of polar and non-polar compounds in plant extracts using polarity-gradient solvent systems in flash chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1218(45), 8121–8129. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.096>