



## Evaluación antioxidante de Ácido *o*-cumárico aislado de hojas de *Gliricidia sepium*

Luis Fernando Martínez Morales<sup>1,\*</sup>, Ever A. Blé González<sup>1</sup>, Carlos E. Lobato García<sup>1</sup>,  
Abraham Gómez Rivera<sup>1</sup>, Manasés González Cortazar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Km. 1. Carretera  
Cunduacán-Jalpa de Méndez, Cunduacán, Tabasco, 86690.

<sup>2</sup>Centro de investigación Biomédicas del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social, Xochitepec, Morelos, Méx.  
\*fernandomn731@gmail.com

### Resumen

*Gliricidia sepium* (cocoíte) es una especie que se utiliza para problemas de la piel principalmente en el sureste del país, se tienen algunos estudios que hablan de la capacidad antioxidante de sus extractos, mientras que a nivel de compuestos aislados los reportes son escasos. En este trabajo se reporta el aislamiento del ácido *o*-cumárico de las hojas de *G. sepium*, que presentó una actividad antioxidante en la prueba ABTS con una  $IC_{50} = 2.03 \mu\text{g/mL}$ . La caracterización de este compuesto se obtuvo de forma comparativa con estándares a través de bandas características de absorción UV-Vis. Este estudio ha demostrado la capacidad antioxidante del ácido *o*-cumárico y valida el uso en la medicina tradicional del cocoíte.

**Palabras claves:** antioxidante, ácido *o*-cumárico, prueba ABTS.

### Abstract

*Gliricidia sepium* (common name: cocoíte) is a species that is used for skin problems mainly in the southeast of Mexico, there are some studies that report the antioxidant capacity of its extracts, However, at the level of isolated compounds the reports are scarce. In this work, the isolation of *o*-coumaric acid from the leaves of *G. sepium* is reported, this compound presented an antioxidant activity in the ABTS test with an  $IC_{50} = 2.03 \mu\text{g/mL}$ . The characterization of the *o*-coumaric acid was performed in a comparative way with standards through characteristic UV-Vis absorption bands. This study has demonstrated the antioxidant capacity of *o*-coumaric acid and validates the use of cocoíte in traditional medicine.

**Keywords:** antioxidant, coumaric acid, ABTS test.

Recibido: 03 de enero de 2023. Aceptado: 10 de marzo de 2023. Publicado: 14 de abril de 2023.

## 1. Introducción

El proceso degenerativo en la fisiología está relacionado en gran medida con la presencia de radicales libres, promoviendo el proceso oxidativo en el cuerpo. Las plantas tienen una gran cantidad de compuestos fenólicos que son capaces de atrapar radicales libres entre los cuales se encuentran: polifenoles, flavonoides, antocianinas, ácidos grasos, entre otros. Los cuales han despertado un gran interés en su uso en la fitoterapia, además de respaldar su valor etnofarmacológico [1].

El rol que presentan los antioxidantes es neutralizar los radicales libres que presentan en las células y así evitar el daño que producen en los organismos vivos. Por otro lado se ha relacionado una gran cantidad de radicales libres, especialmente con un grupo o una especie llamada: Especies Reactivas de Oxígeno



(ROS por sus siglas en inglés) con un gran daño a largo plazo principalmente en el funcionamiento de la célula [2]. Además numerosos estudios han demostrado que los antioxidantes juegan un rol importante en el mantenimiento de la salud en los humanos y en el tratamiento de las enfermedades todo esto debido a la capacidad de reducir el estrés oxidativo [3].

A grandes rasgos los antioxidantes se dividen en dos grupos: enzimáticos y no enzimáticos, en el primer grupo se pueden encontrar: catalasas, peroxidasas, reductasas, entre otros. Mientras que en el segundo grupo están los derivados de plantas los cuales son: ácidos fenólicos, carotenoides, flavonoles, isoflavonoides, flavonoides, flavanonas, antocianidinas [4]. siendo estos últimos los de gran importancia en el estudio de la especie *Gliricidia sepium* dado que dicha solo tiene reportes a nivel extracto especialmente en el etanólico que indican que sí tiene capacidad antioxidante [5].

## 2. Metodología experimental

### 2.1. Material vegetal

El ejemplar de *Gliricidia sepium* fue colectada en Villahermosa, Tabasco, en enero de 2022 y un ejemplar fue depositado en el herbario del de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco con número de registro: **36229**.

### 2.2. Obtención de extractos, fracciones y compuestos

Las hojas frescas de *Gliricidia sepium* (1 Kg) fueron secadas a temperatura ambiente y en un lugar protegido de la luz. El material seco (100 g) fue triturado y macerado de manera secuencial, por triplicado con disolventes de polaridad ascendente como: n-hexano, acetato de etilo, y etanol (Merck). Cada extracto se filtró y concentró a presión reducida en un rotaevaporador (Heidolph a 45 - 50°C). Los extractos fueron liofilizados, para dar los extractos Gs-Hex, Gs-AcOEt, y Gs-EtOH, respectivamente.

Para llevar a cabo el fraccionamiento del extracto de acetato de etilo se utilizó la técnica de cromatografía en columna por gravedad usando gel de sílice de fase normal en proporción 1 g de extracto adsorbido en 5 g de sílice por 10 g de sílice de fase normal utilizando diferentes sistemas de disolventes con diferentes polaridades.

La metodología empleada para el análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR o HPLC), se utilizará un cromatógrafo equipado con un módulo de separación Waters 2695 acoplado un detector de arreglo de diodos Waters 2996 (Milford Massachusetts, USA) y una columna Supelcosil™ LC-F column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, Sigma-Aldrich, Bellefonte, PA, USA): La fase móvil consistió en ácido fórmico acuoso al 0,1% (v / v) (A) y acetonitrilo (B). Los estándares de referencia que se emplearon fueron los adecuados de acuerdo con las características los perfiles cromatográficos que se obtengan en el proceso [6].

### 2.3 Actividad antioxidante

Este método se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS<sup>+</sup>, debido a su reducción a ABTS por la acción de antioxidantes. El radical catiónico ABTS<sup>+</sup> es un cromóforo verde azulado que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis- (3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) con persulfato de potasio (Sigma Aldrich). De esta



manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical ABTS+ está determinado en función a la concentración [7,8].

La solución del radical ABTS+ se preparó mezclando 5 ml de solución ABTS 7 [mM] con 88  $\mu$ L de solución de persulfato de potasio 140 [mM]. En el análisis se utilizaron 100  $\mu$ L de la muestra y 1 mL de la solución del radical ABTS+. Las mediciones se realizaron a una longitud de onda de 490 nm a los 30 min de reacción y a temperatura ambiente [1,8]. Los resultados se expresaron mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante *Camellia sinensis* (Sigma Aldrich) a concentraciones de 6.25, 12.5, 25, 50, 100 y 200  $\mu$ g/mL [8].

### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1 Aislamiento de ácido o-cumárico

Una vez seco y reducido el material, la cantidad de extractos orgánicos en gramos (g) y en porcentaje con respecto al peso inicial (%) obtenidos fue la siguiente: Extracto de acetato de etilo 18.46 g, 1.74%.

Posteriormente se separó hasta obtener ocho fracciones las cuales se monitorearon por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), además de que por Cromatografía en columna se utilizaron diferentes solventes de diferentes polaridades para finalmente obtener el ácido o-cumárico cuya estructura se puede ver en la figura 4.

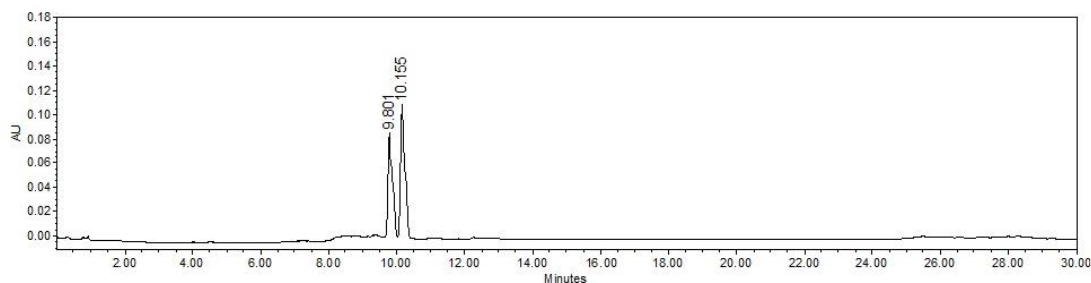


Figura 1. Cromatograma de la Fracción 7 del extracto de Acetato de etilo a 280 nm.

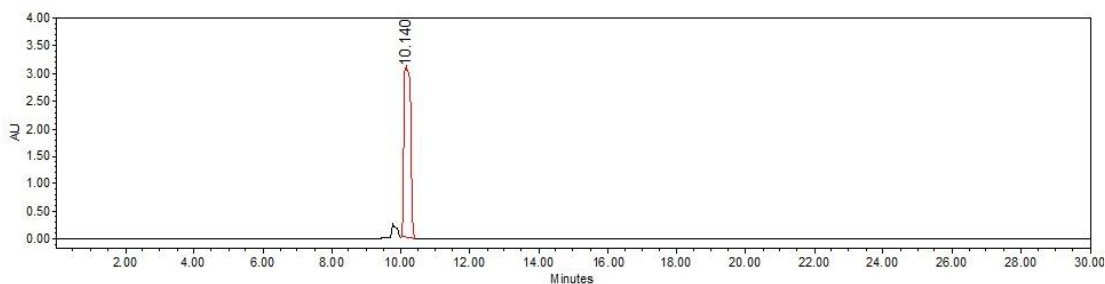


Figura 2. Cromatograma del compuesto GSFC2R7-18 (Ác. Cumarico) a 280 nm.

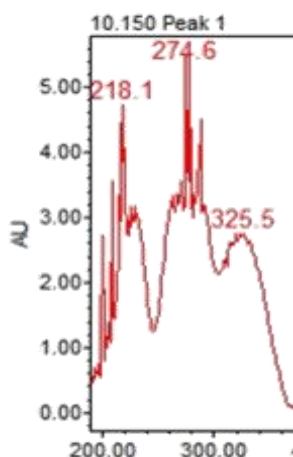


Figura 3. Espectro Uv-Vis del compuesto GSFCR7-18.

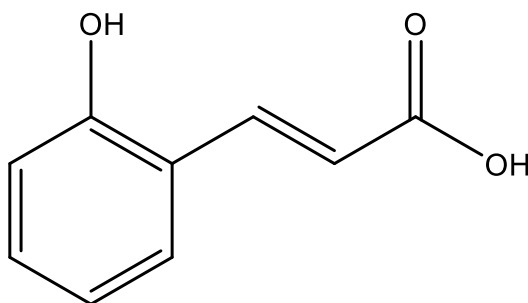


Figura 4. Estructura química del ácido o-cumárico [9].

En la figura 3 se observan las tres bandas de absorción máxima (218, 274, 325 nm), esto se debe a la interacción de los enlaces dobles o enlaces  $\pi$  que tiene la molécula, debido al comportamiento en el Uv-Vis de dicha molécula y de acuerdo con lo reportado en la literatura este comportamiento es indicativo que el compuesto es ácido o-cumárico [10], un derivado del ácido cinámico. Por otro lado, se tienen reportes de que dicho compuesto está en presente en la especie [10,11].

### 3.2 Actividad antioxidante

Los resultados que se presentan de la prueba de ABTS, podemos apreciar que existe una ausencia de coloración en las celdas donde se encuentran ácido o-cumárico (figura 5) a diferentes concentraciones como se presenta en la tabla 1 mientras que el estándar se presenta en la tabla 2.

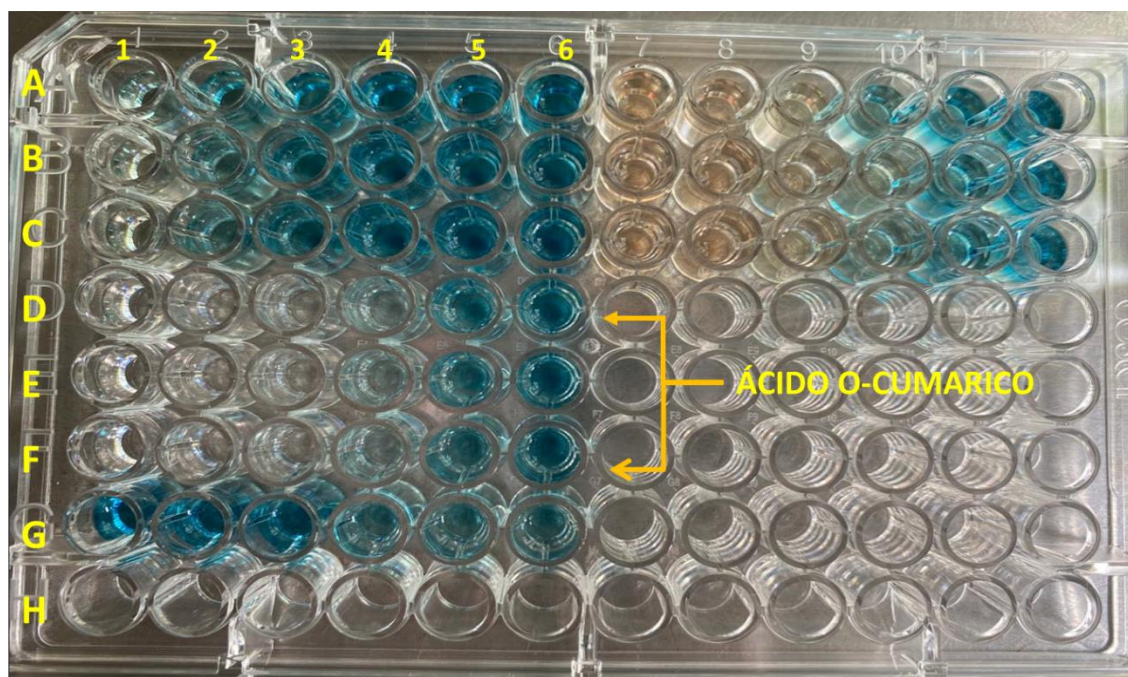


Figura 5. Placa utilizada para ABTS a 490 nm.

Celda	Concentración $\mu\text{g/mL}$	% Inhibición	Desviación estándar
1	1000	87.2	1.417
2	500	81.1	1.028
3	250	70.0	0.755
4	125	53.6	0.065
5	62.5	38.4	2.515
6	31.25	24.4	4.011

Tabla 1. Prueba antioxidante de ABTS de ácido o-cumárico aislado de *Gliricidia sepium*.

Celda	Concentración $\mu\text{g/mL}$	% Inhibición	Desviación estándar
1	200	95.8	0.065
2	100	66.7	0.536
3	50	34.1	1.047
4	25	11.9	0.364
5	12.5	2.0	0.173

Tabla 2. Prueba de ABTS para el estándar de *Camellia sinensis*.

Una vez realizada la evaluación antioxidante se confirmó que el ácido o-cumárico aislado de *Gliricidia sepium*, tiene capacidad antioxidante utilizando la metodología de ABTS, dicha actividad se puede clasificar como de intensidad media dado que el compuesto aislado tiene una  $IC_{50} = 117.9 \mu\text{g/mL}$  con respecto al estándar utilizado de *Camellia sinensis* el cual ya tiene una actividad antioxidante demostrada



en este modelo de acuerdo con la metodología presentada. Sin embargo, es importante realizar otro tipo de metodologías para comprobar el mecanismo antioxidante que tiene este compuesto.

#### 4. Conclusiones

El ácido o-cumárico posee capacidad antioxidante en la prueba de ABTS, por lo que también se podría aplicar en modelos que tengan alguna actividad relacionada, tales como: antiinflamatorio, antihipertensivo, entre otros. Sin embargo, son pocos los estudios que se tienen con respecto a este compuesto que se ha reportado en esta especie [11–13] así como son pocos las publicaciones correspondientes al metabolito presentado en este trabajo.

#### 5. Agradecimientos

LFMM agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado mediante la beca de maestría (1149351). Así mismo al Cuerpo Académico “Química Orgánica” de la UJAT y al personal del Laboratorio de Fitoquímica del Centro de Investigación Biomédicas del Sur del Instituto Mexicano del Seguro Social por las facilidades brindadas para el desarrollo de este proyecto.

#### 6. Referencias

1. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021;22(7). Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/7/3380>
2. Rodrigo R, Rodrigo R. Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease. Vol. 358. Nova Biomedical Books New York; 2009.
3. Shahidi F, Zhong Y. Measurement of antioxidant activity. *J Funct Foods*. 2015;18:757-81.
4. Carochi M, Ferreira ICFR. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*. enero de 2013;51:15-25.
5. Abdulaziz AA, Dapar MLG, Manting MME, Torres A, Aranas AT, Mindo RAR, et al. Qualitative evaluation of the antimicrobial, antioxidant, and medicinally important phytochemical constituents of the ethanolic extracts of the leaves of *Gliricidia sepium* (Jacq.). *Pharmacophore*. 2019;10(4):72-83.
6. Martínez Morales LF. EVALUACIÓN DE LA ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTOS TOTALES DE *Gliricidia sepium*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; 2021.
7. Juárez-Aragón MC, Moreno-Ramírez Y del R, Guerra-Pérez A, Mora-Olivo A, Olazarán-Santibáñez FE, Torres-Castillo JA. Drying Effects on Phenolics and Free Radical-Scavenging Capacity of *Rhus pachyrrhachis* and *Rhus virens* Used in Traditional Medicine. *Molecules* [Internet]. 2019;24(13). Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/13/2438>
8. Nuñez WJ, Quispe R, Ramos NJ, Castro AJ, Gordillo G. Actividad antioxidante y antienzimática in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* “TARA”. *Cienc E Investig*. 2 de agosto de 2017;19(1):35-42.
9. Rioja Antezana AP, Vizaluque BE, Aliaga-Rossel E, Tejeda L, Book O, Mollinedo P, et al. Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de *chenopodium quinoa*. *Rev Boliv Quím*. 2018;35(5):168-76.



10. Chan EWC, Lim YY, Chew YL. Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. *Food Chem.* 2007;102(4):1214-22.
11. Benvidi A, Dadras A, Abbasi S, Tezerjani MD, Rezaeinasab M, Tabaraki R, et al. Experimental and computational study of the pKa of coumaric acid derivatives. *J Chin Chem Soc.* 2019;66(6):589-93.
12. Kim H, Kim SH. o-Coumaric acid attenuates atopic dermatitis-like skin inflammation. *J Immunol.* 2020;204(1 Supplement):147.31-147.31.
13. Cacahuananche. En: Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana [Internet]. Biblioteca de la medicina tradicional mexicana; [citado 3 de noviembre de 2022]. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=gliricidia-sepium>
14. Rastrelli L, Caceres A, De Simone F, Aquino R. Studies on the constituents of *Gliricidia sepium* (Leguminosae) leaves and roots: isolation and structure elucidation of new triterpenoid saponins and aromatic compounds. *J Agric Food Chem.* abril de 1999;47(4):1537-40.
15. Cifuentes CM, Gómez-Serranillos M, Iglesias I, Del Fresno AV. Neuropharmacological profile of ethnomedicinal plants of Guatemala. *J Ethnopharmacol.* 2001;76(3):223-8.