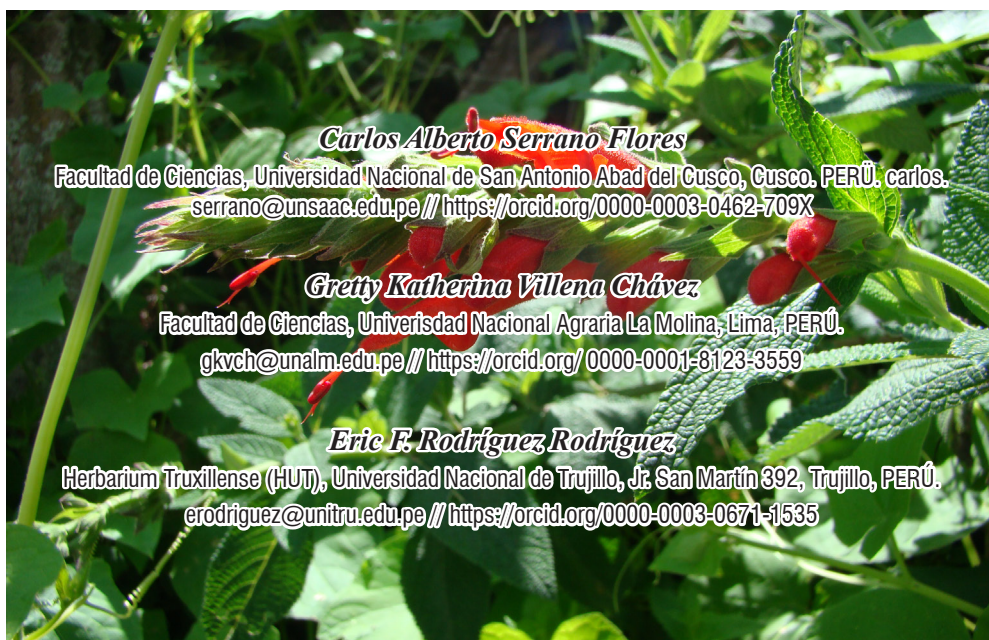


Algunos componentes fitoquímicos y actividad antioxidante en representantes de la tribu Mentheae (Lamiaceae) del Perú

Some phytochemical components and antioxidant activity in representatives of the Mentheae tribe (Lamiaceae) of Peru



Resumen

Mediante métodos espectrofotométricos y de cromatografía uhplc se evaluó el contenido de fenoles totales, flavonoides totales, ácidos hidroxycinnámicos totales, capacidad antioxidante total, el porcentaje de ácidos triterpénicos ursólico y oleanólico así como el porcentaje de ácido rosmarínico en trece representantes peruanos de la tribu *Mentheae* (Lamiaceae): *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda, *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts, *Clinopodium revolutum* (Ruiz & Pav.) Govaerts, *Clinopodium sericeum* (C. Presl ex Benth.) Govaerts, *Hedeoma mandoniana* Wedd., *Lepechinia floribunda* (Benth.) Epling, *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling, *Minthostachys mollis* Griseb., *Salvia dombeyi* Epling, *Salvia cuspidata* Ruiz & Pav., *Salvia haenkei* Benth., *Salvia oppositiflora* Ruiz & Pav., *Salvia sagittata* Ruiz & Pav. La especie con mayor actividad antioxidante y a la vez con mayor contenido en ácido rosmarínico es *Lepechinia meyenii* y la especie con mayor contenido en ácidos triterpénicos es *Clinopodium revolutum*. Todas las demás especies muestran resultados entre estas dos especies extremas. *Lepechinia floribunda* y *Salvia sagittata* son también importantes por su contenido en ácido rosmarínico y en su capacidad antioxidante mientras que *Clinopodium brevicalyx*, *Salvia sagittata*, *Salvia cuspidata* y *Clinopodium sericeum* son importantes por su contenido en flavonoides.

Palabras clave: *Mentheae*, *Menthinae*, *Salviinae*, ácidos triterpénicos, ácido rosmarínico.

Abstract

Using the spectrophotometric and uhplc chromatography methods, the content of total phenols, total flavonoids, total hydroxycinnamic acids, total antioxidant capacity, the percentage of ursolic and oleanolic triterpenic acids as well as the percentage of rosmarinic acid in thirteen Peruvian representatives of the tribe *Mentheae* (Lamiaceae) were evaluated. The taxa are: *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda, *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts, *Clinopodium revolutum* (Ruiz & Pav.) Govaerts, *Clinopodium sericeum* (C. Presl ex Benth.) Govaerts, *Hedeoma mandoniana* Wedd., *Lepechinia floribunda* (Benth.) Epling, *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling, *Minthostachys mollis* Griseb., *Salvia dombeyi* Epling, *Salvia cuspidata* Ruiz & Pav., *Salvia haenkei* Benth., *Salvia oppositiflora* Ruiz & Pav., *Salvia sagittata* Ruiz & Pav. The species with the highest antioxidant activity and at the same time with the highest rosmarinic acid content is *Lepechinia meyenii* and the species with the highest triterpenic acid content is *Clinopodium revolutum*. All other species show results between these two extreme species. *Lepechinia floribunda* and *Salvia sagittata* are also important for their rosmarinic acid content and antioxidant capacity while *Clinopodium brevicalyx*, *Salvia sagittata*, *Salvia cuspidata* and *Clinopodium sericeum* are important for their flavonoid content.

Keywords: *Mentheae*, *Menthinae*, *Salviinae*, triterpenic acids, rosmarinic acid.

Citación: Serrano, C.; G. Villena & E. Rodríguez. 2020. Algunos componentes fitoquímicos y actividad antioxidante en representantes de la tribu *Mentheae* (Lamiaceae) del Perú. *Arnaldoa* 27 (1):169-180 <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.271.27109>

Introducción

La gran familia *Lamiaceae* tiene siete subfamilias. La subfamilia *Nepetoideae* con 3400 especies y 105 géneros a su vez tiene tres tribus (Drew *et al.*, 2011): *Elsholtzieae*, *Ocimeae* y *Mentheae*, esta última con 65 géneros. La tribu *Mentheae* se caracteriza químicamente por poseer terpenoides volátiles y un ácido fenólico llamado ácido rosmarínico que

hace que estas plantas sean aromáticas y con propiedades medicinales (Wink, 2003, Amoah *et al.*, 2016). Las *Mentheae* además se pueden clasificar en 3 subtribus: *Menthinae* (43 géneros), *Salviinae* (10 géneros) y *Nepetiinae* (12 géneros) (Bräuchler *et al.*, 2010; Drew *et al.*, 2012). En Perú los géneros de *Mentheae* son *Clinopodium* (20 especies), *Hedeoma* (1 especie), *Lepechinia* (11

especies), *Mentha* (4 especies, introducidas), *Minthostachys* (8 especies), *Rosmarinus* (1 especie, introducida) y *Salvia* (80 especies, 1 introducida) (Zarucchi, 1993; Ulloa *et al.*, 2004; Granda 2010; Sagástegui & Rodríguez, 2012). *Clinopodium*, *Hedeoma*, *Mentha* y *Minthostachys* pertenecen a la subtribu *Menthinae*, mientras que *Lepechinia*, *Rosmarinus* y *Salvia* pertenecen a la subtribu *Salviinae*. Además, 50 especies de *Mentheae* son endémicas a Perú (Rodríguez, 2006).

En la presente comunicación se evaluó el contenido de fenoles totales (Gálvez *et al.*, 2015), flavonoides totales (Bag *et al.*, 2015); ácidos hidroxycinnámicos totales (Stefan *et al.*, 2013) y la capacidad antioxidante total (Prieto *et al.* 1999, Bag *et al.*, 2015). Además, por cromatografía uhplc, se cuantificó el

contenido en ácidos triterpénicos, ursólico y oleanólico (Srivastava *et al.*, 2010) y ácido rosmarínico (Venskutonis *et al.*, 2017) en trece especies peruanas de la tribu *Mentheae* (Cuadro1).

Materiales y métodos

Parte Experimental

Material Vegetal: Se colectó en los departamentos de Cusco, Ancash, Lima, Amazonas, Huánuco y Moquegua en las localidades, fechas y altitudes que aparecen en el Cuadro 1 (colector: C. Serrano F. s.n.). Los ejemplares de Herbario se determinaron y depositaron en el Herbarium Truxillense (HUT), Universidad Nacional de Trujillo, Perú; además se incluyen fotos de todas las especies (Anexos 1-3).

Cuadro 1. Especies de la tribu *Mentheae* (Lamiaceae) estudiadas, indicando información de la colección y códigos de depósito en el herbario HUT.

Especie	Localidad, fecha, altitud (m)	Código HUT
<i>Lepechinia meyenii</i> (Walp.) Epling	Pumahuanca, Cusco (febrero 2014), 3800 m	59504
<i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda	Tambomachay, Cusco (junio 2017), 3715 m	59506
<i>Salvia oppositiflora</i> Ruiz & Pav.	Saxaywamán, Cusco (junio 2017), 3656 m	59502
<i>Lepechinia floribunda</i> (Benth.) Epling	Huarán, Cusco (julio 2014), 3160 m	59503
<i>Minthostachys mollis</i> Griseb.	Cajatambo, Lima (junio 2017), 3315	59766
<i>Salvia sagittata</i> Ruiz & Pav.	Sullcapunta, Huánuco (enero 2014), 3500 m	59499
<i>Salvia cuspidata</i> Ruiz & Pav.	Cajatambo, Lima (junio 2017), 3315	59505
<i>Clinopodium revolutum</i> (Ruiz & Pav.) Govaerts	Sullcapunta, Huánuco (enero 2014), 3975 m	58329
<i>Clinopodium sericeum</i> (C. Presl ex Benth.) Govaerts	Gocta, Amazonas (febrero 2016), 2090 m	58332

<i>Salvia haenkei</i> Benth.	Cuchumbaya, Moquegua (julio 2013), 2930 m	59500
<i>Salvia dombeyi</i> Epling	Laraos, Lima (febrero 2018), 3310 m	59764
<i>Hedeoma mandoniana</i> Wedd.	Inquilpata, Anta, Cusco (febrero 2018), 3850 m	59763
<i>Clinopodium pulchellum</i> (Kunth) Govaerts	Carhuayoc, Huari, Ancash (marzo 2018), 3460 m	59765

Productos Químicos y equipamiento básico:

Todos los reactivos y solventes utilizados fueron de grado analítico. El acetonitrilo (Merck) fue de grado HPLC. Estándares de ácidos cafeico (Aldrich), rosmarínico (Aldrich), oleanólico y ursólico (Chromadex). Baño ultrasónico (JeioTech). Rotavapor (Buchi R210). Estufa (Mettler UNB). Espectrofotómetro visible (Thermoscientific Genesys 20).

Preparación de extractos etanólicos

50 mg de vegetal pulverizado se sometieron a baño ultrasónico por 5 minutos con 1 mL de etanol x 3 veces. Se filtró. Se aforó a 5 mL con etanol. Con 2 mL se determinó la masa total extraída en estufa a 40°C y el resto del extracto se almacenó a 4°C hasta la realización de los análisis subsecuentes.

Determinación de fenoles totales

Se utilizó el método de Folin Ciocalteu (Gálvez et al. 2005), 50 ó 100 µL de extracto se diluyeron hasta 2 mL con agua. Luego se agregó 100 µL de Reactivo de Folin Ciocalteu (Merck) en dilución (1:10) en agua + 200 µL de solución de Na₂CO₃ al 20%. Se esperó 30 minutos en oscuridad y luego se midió la absorbancia a 765 nm. La curva de calibración se hizo empleando solución de ácido gálico de 0.1 mg/mL. El análisis se ejecutó por triplicado.

Determinación de flavonoides totales

Se empleó el método del cloruro de aluminio (Bag et al. 2015). A 50 µL de extracto se agregó 0.1 mL de AlCl₃ al 10%, 0.1 mL de acetato de sodio 0.1 M, 1.5 mL de etanol y agua suficiente para completar 6 mL. Se mezcló bien. Se midió absorbancia a 415 nm. Luego se hizo otra secuencia igual a la anterior, pero en lugar de los 0.1 mL de AlCl₃ al 10% utilizar 0.1 mL de agua. I también se midió la absorbancia a 415 nm. La diferencia de lecturas se utilizó para los cálculos. La curva de calibración se hizo utilizando una solución de quercetina (1 mg/10mL). El análisis se ejecutó por triplicado.

Determinación de ácidos hidroxycinnámicos totales

Se empleó el método de Arnou (Stefan et al., 2013). Sobre 20 a 300 µL de extracto se le agregaron 2 mL de HCl 0.5 M, 2 mL del reactivo de Arnou, 2 mL de NaOH al 8.5% y agua suficiente para completar 11 mL. Se mezcló bien y se leyó a 505 nm. Además se hizo una secuencia de compensación utilizando 2 mL de agua en lugar del reactivo de Arnou. La diferencia de lecturas se utilizó para los cálculos. El reactivo de Arnou se preparó disolviendo 10 g de nitrito de sodio, 10 g de molibdato de amonio en agua hasta 100 mL. La curva de calibración se hizo con ácido rosmarínico de 0.1 mg/mL en etanol del 20%. El análisis se ejecutó por triplicado.

Determinación de la capacidad antioxidante total

Se trabajó con el método del azul de molibdeno (V) a partir de molibdeno (VI) (Prieto *et al.*, 1999; Bag *et al.*, 2015). A 100 μ L de extracto se agregó 1 mL de reactivo de fosfomolibdato, 1 mL de agua y se calentó en estufa a 80°C por una hora. En este tiempo se desarrolló el color. Luego se diluyó con 5 mL de agua y la lectura se hizo a 695 nm. El reactivo de fosfomolibdato consistió de una solución que contiene molibdato de amonio (4.66 g/L), $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (10.64 g/L) y H_2SO_4 concentrado 32.61 mL/L. La curva de calibración se hizo con solución de ácido ascórbico de 100 μ g/mL. El análisis se ejecutó por triplicado.

Cuantificación de AR en 13 Mentheae en extractos etanólicos

50 mg de vegetal pulverizado se sometieron a baño ultrasónico por 5 minutos con 1 mL de etanol x 3 veces. Los filtrados se aforaron a 5 mL con el mismo solvente. Este filtrado nuevamente se filtró a viales a través de membrana de teflón de 0.22 μ m. Condiciones DAD-UHPLC (Dionex Thermoscientific Ultimate 3000 UHPLC con software Chromeleon 7.2) (Venskutonis *et al.*, 2017): Columna RPC18 Zorbax Rapid Resolution de 100 x 2.1 mm x 1.8 μ m. Temperatura de separación: 40°C. Flujo: 0.4 mL/minuto. Gradiente: a) H_2CO_2 al 0.1 %; b) MeCN; (tiempo, %b): (0,0); (1,0); (6,40); (9,100); (13,100); (14,0); (17,0). DAD: 200-500 nm; UVVis 1: 254 nm; UVVis 2: 330 nm; UV Vis 3: 280 nm; UV Vis 4: 370 nm. La cuantificación se hizo con las lecturas obtenidas a 330 nm. Paralelamente se ejecutó curva de calibración con ácido rosmarínico estándar (Aldrich) de 2, 1.5, 1, 0.5 y 0.2 mg/mL con una linealidad de 0.999. El análisis se ejecutó por triplicado.

Cuantificación de ácidos triterpénicos en 13 especies de Mentheae en extractos etanólicos

Se utilizaron las mismas soluciones que para el caso de la cuantificación de ácido rosmarínico. Método cromatográfico: (Dionex Thermoscientific Ultimate 3000 UHPLC, con software Chromeleon 7.2) (Srivastava *et al.* 2010): Columna Phenomenex Lichrospher RPC18 25 x 0.46 cm x 5 μ m. Tiempo de análisis: 20 minutos. Temperatura: 30°C. Modo de elución: isocrático (MeCN: agua, 8:2). DAD: 200-400 nm, longitud de onda detectiva a 209 nm. Curva de calibración con estándar mixto de AO y AU (Chromadex) de 2, 1, 0.5 y 0.3 mg/mL de AO y AU. El análisis se ejecutó por triplicado.

Todos los análisis fitoquímicos se efectuaron en el laboratorio de Química Orgánica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), Cusco, Perú.

Resultados y discusión

La especie con mayor actividad antioxidante y a la vez mayor contenido en ácido rosmarínico es *Lepechinia meyenii* "Puna Salvia", planta muy importante en el sur andino del Perú- en un libro de nombre particularmente sugerente "Superación de la enfermedad en las alturas de los andes del Perú" (Hahold *et al.*, 1990), que es un estudio hecho en la provincia de Espinar-Cusco en altitudes de 3800 a 4500 msnm muestra a esta planta como la tercera planta medicinal de mayor utilización en comunidades cuya salud entonces dependía casi exclusivamente en el empleo de plantas medicinales. Un estudio reciente (Crespo *et al.*, 2019) describe la presencia de ácido p-coumárico, ácido cafeico y ácido rosmarínico en *L. meyenii* como inhibidores de enzima tirosinasa. Por otro lado, la

Cuadro 2. Contenido de fenoles totales, flavonoides totales, ácidos hidroxicinnámicos totales, capacidad antioxidante total, contenido en ácidos triterpénicos ursólico y oleanólico, y ácido rosmarínico en trece especies peruanas de la tribu Mentheae (Lamiaceae).

Muestra	Fenoles totales (µg AG/100 µg de extracto etanólico)	Flavonoides totales (µg Qu/100 µg de extracto etanólico)	Ácidos hidroxicinnámicos totales (µg AR/100 µg de extracto etanólico)	Actividad antioxidante (µg vitamina C/100 µg de extracto etanólico)	Porcentaje de ácido oleanólico	Porcentaje de ácido ursólico	Porcentaje de ácido rosmarínico
<i>Lepechinia meyenii</i>	50.00±0.98	10.82±0.55	37.59±2.78	25.79±0.56	0.50±0.06	0.79±0.01	4.61±0.06
<i>Clinopodium brevicalyx</i>	30.14±0.40	12.07±0.13	14.35±0.88	13.69±0.67	0.38±0.00	0.77±0.00	1.12±0.02
<i>Salvia oppositiflorum</i>	7.78±0.73	5.38±0.20	3.84±0.29	8.33±0.11	0.64±0.00	0.58±0.01	0.65±0.00
<i>Lepechinia floribunda</i>	20.77±0.00	3.69±0.07	18.05±0.05	14.11±0.02	0.31±0.00	0.53±0.00	1.43±0.01
<i>Minthostachys mollis</i>	28.87±0.79	8.18±0.19	7.51±0.08	17.28±0.25	1.11±0.03	1.76±0.04	0.91±0.02
<i>Salvia sagittata</i>	34.76±0.42	11.28±0.14	21.45±1.54	20.21±0.53	1.35±0.03	1.97±0.07	1.42±0.03
<i>Salvia cuspidata</i>	21.60±0.31	14.29±0.82	8.03±0.04	10.08±0.07	1.70±0.04	1.42±0.03	0.91±0.02
<i>Clinopodium revolutum</i>	16.12±0.33	3.18±0.46	12.00±0.37	14.70±0.07	2.55±0.05	4.81±0.10	0.63±0.01
<i>Clinopodium sericeum</i>	34.05±0.47	11.36±0.46	24.31±0.00	13.31±0.34	1.91±0.04	3.34±0.01	0.81±0.02

<i>Salvia haenkei</i>	8.21±0.06	3.77±0.38	n.d.	18.03±0.10	1.16±0.00	1.95±0.01	0.54±0.01
<i>Salvia dombeyi</i>	6.45±0.12	7.26±0.33	n.d.	11.71±0.16	0.71±0.01	1.18±0.02	n.d.
<i>Hedeoma mandoniana</i>	14.15±0.25	4.74±0.00	12.84±1.18	10.00±0.10	0.75±0.01	1.33±0.01	0.33±0.02
<i>Clinopodium pulchellum</i>	16.08±0.14	5.48±0.23	9.04±0.58	9.87±0.14	1.07±0.04	1.58±0.02	0.19±0.01

especie con mayor contenido en ácidos triterpénicos es *Clinopodium revolutum* “Flor de Arena” o “Te Indio”, especie medicinal de la sierra del centro y norte de Perú, que sin embargo muestra una actividad antioxidante moderada y bajo contenido en ácido rosmarínico- es difícil explicar los efectos depurativos y desintoxicantes de esta especie en base a su alto contenido en ácido triterpénicos puesto estas moléculas no se disuelven en agua y la manera como se usa la planta es precisamente, la decocción acuosa, se requieren mayores estudios. En todo caso, ambas especies, *L. meyenii* y *C. revolutum*, de todas las especies estudiadas, son las de mayor “reputación etnofarmacológica” tanto en los sistemas medico tradicionales del sur y norte del Perú, respectivamente. Al respecto, Serrano *et al.* (2016) coinciden con esta aseveración y resultados referidos a esta especie *C. revolutum* por presentar una elevada concentración de metabolitos bioactivos. Todas las demás plantas muestran resultados entre estas dos especies extremas. *Lepechinia floribunda* y *Salvia sagittata* son también importantes en su contenido en ácido rosmarínico y en su capacidad antioxidante mientras que *Clinopodium brevicalyx*, *Salvia sagittata*, *Salvia cuspidata* y *Clinopodium sericeum* son importantes por su contenido en flavonoides. Así la presente comunicación provee una base para posteriores estudios en este importante grupo de plantas medicinales.

Agradecimientos

C.S. agradece a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y también al Botánico Hamilton Beltrán del Herbario “Javier Prado” de la UNMSM. E.R. reconoce al Herbarium Truxillense (HUT) por las facilidades brindadas en la determinación taxonómica y depósito de los taxones

motivo de estudio.

Contribución de los autores

C.S.: Redacción del texto, ejecución del trabajo de campo y laboratorio, revisión de bibliografía, registro fotográfico; revisión y aprobación del texto final. G.V.: Redacción del texto, revisión de bibliografía; revisión y aprobación del texto final. E.R.: Redacción del texto, determinación taxonómica de las especies, revisión de bibliografía, registro fotográfico; revisión y aprobación del texto final.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Literatura citada

- Amoah, S.; L. Sandjo; J. Kratz & M. Biavatti. 2016. Rosmarinic acid-pharmaceutical and clinical aspects. *Planta Medica* 82, 388-406. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0035-1568274>
- Bag, G.; P. Grinhajali & T. Bhaigyabati. 2015. Assessment of Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Methanolic Rhizome Extract of Three Hedychium Species of Manipur Valley. *Int. J. Pharm Sci. Rev. Res.* 30(1), 154-159. ISSN: 0975-8585.
- Bräuchler, C.; G. Heubl & H. Meimberg. 2010. Molecular Phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae)-taxonomy, biogeography and conflicts. *Molecular Phylogenetics & Evolution* 55(2), 501-523. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2010.01.016>
- Crespo, M.; M. Funes; P. Ailín; M. Joray; S. Palacios; D.Vera & M. Carpinella. 2019. Inhibitory effects of compounds isolated from *Lepechinia meyenii* on tyrosinase. *Food and Chemical Toxicology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2019.01.019>
- Drew, B. & K. Sytsma. 2011. Testing the Monophyly and placement of *Lepechinia* in the tribe Mentheae (Lamiaceae). *Systematic Botany* 36(4), 1038-1049. <http://dx.doi.org/10.1600/036364411X605047>
- Drew, B. & K. Sytsma. 2012. Phylogenetics, Biogeography, and staminal evolution in the tribe Mentheae (Lamiaceae). *American J. Botany* 99(5), 933-953. <https://dx.doi.org/10.3732/ajb.1100549>

- Gálvez, M.; C. Martín; P. Houghton & M. Ayuso.** 2005. Antioxidant Activity of Methanol Extracts Obtained from Plantago Species. *J. Agric. & Food Chem.* 53, 1927-1933. <http://dx.doi.org/10.1021/jf048076s>
- Granda A.** 2010. *Salvia hunzikeri* (Lamiaceae), una nueva especie de los Andes del Perú. *Rev. peru. biol.* 17(2): 151-154.
- Hahold A. & A. Kroeger.** 1990. Superación de la enfermedad en las alturas de los andes del Perú. *CMA* 1990.
- Prieto, P.; M. Pineda & M. Aguilar.** 1999. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269, 337-341. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1999.4019>
- Rodríguez M.** 2006. Lamiaceae endémicas del Perú. En *El libro rojo de las plantas endémicas del Perú*. Ed.: B. León et al. *Rev. peru. biol.* Número especial 13(2): 371-379.
- Sagástegui, A. & E. Rodríguez.** 2012. Una nueva especie de *Salvia* (Lamiaceae) del Norte de Perú. *Rev. peru. biol.* 19(2): 139 - 142.
- Serrano, C.; B. Calsino; A. Tupa; R. Huamán; M. Ludeña & E. Rodríguez.** 2016. Cuantificación de ácido oleanólico, ácido ursólico y ácido rosmarínico en tres especies peruanas de Clinopodium (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae). *Arnaldoa* 23(1), 333-350. ISSN: 1815-8242/ 2413-3299.
- Srivastava, P.; N. Kasoju; U. Bora & R. Chaturvedi.** 2010. Simultaneous determination and quantification of three pentacyclic triterpenoids - betulinic acid, oleanolic acid and ursolic acid- in cell cultures of Lantana camara L.. *In Vitro Cell Development Biology* 46, 549-557. <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-010-9298-3>
- Stefan, M.; J. Vukovic; B. Blazekovic; M. Kindl & S. Vladimir.** 2014. Total Hydroxycinnamic Acids Assay: Prevalidation and Application on Lamiaceae Species. *Food Anal. Methods* 7(2), 326-336. <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-013-9630-8>.
- Ulloa, C.; J. L. Zarucchi & B. León.** 2004. Diez años de adiciones a la Flora del Perú: 1993-2003. *Arnaldoa* (Edic. Espec., Nov. 2004): 1-242.
- Venskutonis, P.; V. Sulniute & A. Pukalskas.** 2017. Phytochemical compositions of fractions isolated from 10 Salvia species by scCO₂ and pressurized liquid extraction methods. *Food Chemistry* 224, 37-47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.047>
- Wink, M.** 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry* 64, 3-19. [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(03\)00300-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(03)00300-5)
- Zarucchi J. L.** 1993. Lamiaceae. In: Brako, L. & Zarucchi, J.L. (eds.). Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 45: 579-590.

ANEXO

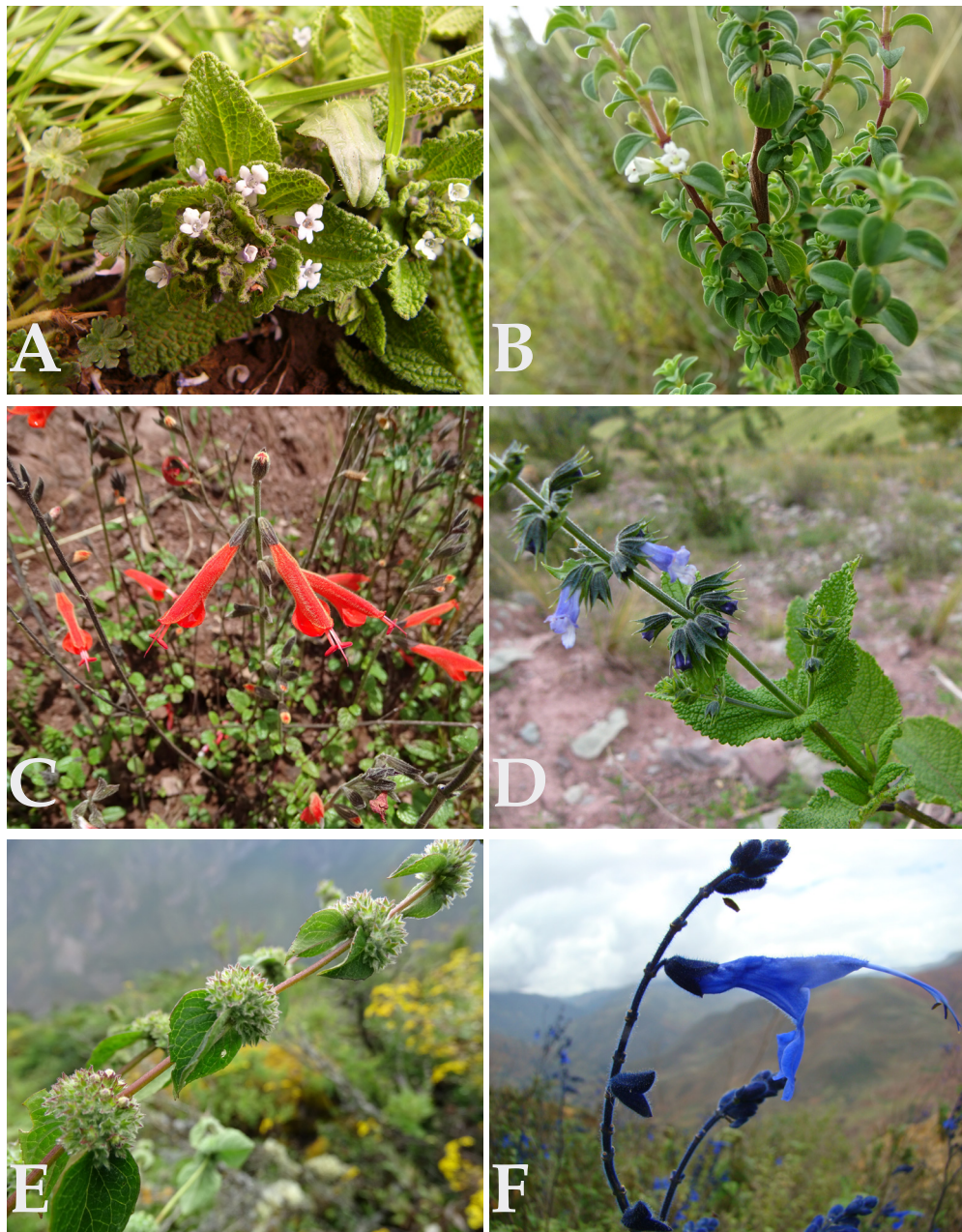


Fig. 1. A. *Lepechinia meyenii*, B. *Clinopodium brevicalyx*, C. *Salvia oppositiflora*, D. *Lepechinia floribunda*, E. *Minthostachys mollis*, F. *Salvia sagittata*.

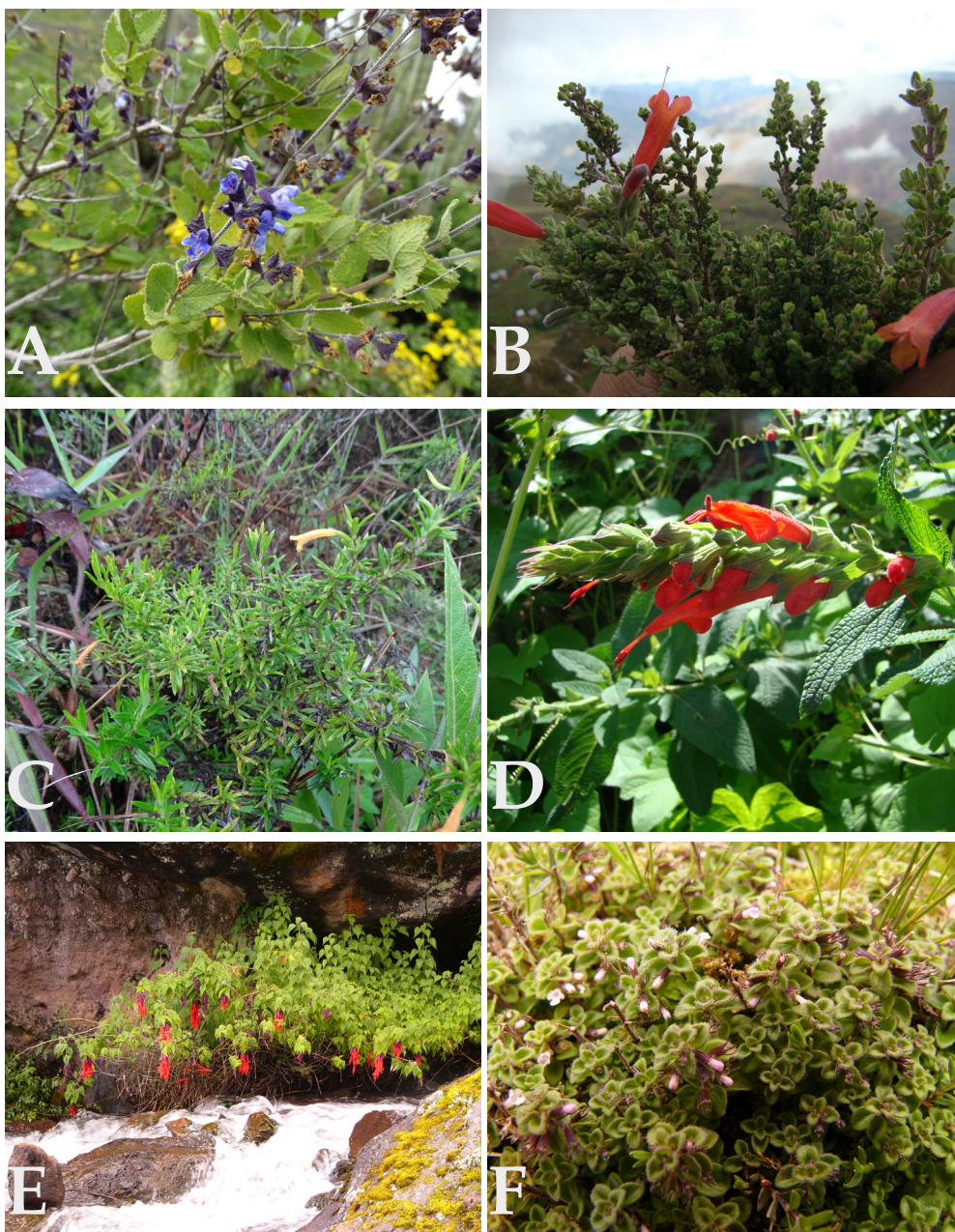


Fig. 2. A. *Salvia cuspidata*, B. *Clinopodium revolutum*, C. *Clinopodium sericeum*, D. *Salvia haenkei*, E. *Salvia dombeyi*, F. *Hedeoma mandoniana*.



Fig. 3. *Clinopodium pulchellum*.