

ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE LA ESPECIE COLOMBIANA *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R.M. King & H. Rob. Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

RESUMEN

Se evaluó la actividad contra las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, y el hongo *Fusarium oxysporum* de los extractos y fracciones de diferente polaridad de hojas y flores de la especie vegetal *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R.M. King & H. Rob., empleando los métodos de difusión en gel por perforación en placa y macrodilución en placa respectivamente; se aislaron y purificaron con el uso de técnicas cromatográficas once metabolitos secundarios, entre ellos 5,4-dihidroxi-7-metoxiflavonol, β -estigmasterol, hidroquinona, y eicosanol, cuyas estructuras fueron elucidadas a través de sus propiedades físicas y químicas y por el uso de técnicas espectroscópicas (UV y RMN).

PALABRAS CLAVES: *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R.M. King & H. Rob., *Asteraceae*, actividad antibacteriana, actividad antifúngica, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

Different polarity Extracts and fractions from leaves and flowers of the plant species Chromolaena subscandens (Hieron.) R.M. King & H. Rob. were evaluated for activity against the bacteria Escherichia coli Staphylococcus aureus, and fungus Fusarium oxysporum using the methods of diffusion in gel by plate perforation and macrodilution in plate respectively. Eleven secondary metabolites were isolated and purified with the use of chromatographic techniques, among them, 5,4-dihydroxy-7-methoxyflavonol, β -stigmasterol, hydroquinone, and eicosanol; whose structures were elucidated through their physical and chemical properties and by the use of spectroscopic techniques (UV and RMN).

KEYWORDS: *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R.M. King & H. Rob., *Asteraceae*, Antibacterial activity, antifungal activity, secondary metabolites.

1. INTRODUCCIÓN

La tribu *Eupatorium*, que representa cerca del 10% de la familia *Asteraceae*, y posee cerca de 2000 especies presentes en las regiones neotropicales [1]. Debido a su complejidad morfológica, la clasificación de muchas de ellas era muy ambigua, hasta el estudio en que R. M. King y H. Robinson las agruparon en nuevas categorías taxonómicas, una de ellas es hoy en día conocida como el género *Chromolaena* [2]. En el marco del proyecto desarrollado actualmente por el GIFUJ que busca caracterizar la química y actividad biológica de este género, se realizó el correspondiente estudio de la especie *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R.M. King & H. Rob.

2. CONTENIDO

2.1. Especie botánica

Chromolaena subscandens (Hieron.) R.M. King & H. Rob., fue anteriormente conocida como *Eupatorium*

subscandens, y clasificada por primera vez por el alemán G. Hieronymus a finales del siglo XIX. Debido a que las especies del género *Chromolaena* son consideradas malezas en la mayoría de regiones, no presenta nombre común.

2.2. ESTUDIOS PREVIOS

En un estudio previo realizado en Venezuela, se aislaron a partir de hojas de *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R. M. King & H. Rob., ácido *p*-metoxibenzoico, umbeliferona, β -sitosterol y los flavonoides 7- α -(L)-rhamnosil-kaempferol, kaempferitrina, sakuranetina, 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavanona y el nuevo flavonoide 5,7-dihidroxi-8,4'-dimetoxiflavanona, denominado con el nombre de subscandenina [4].

RUBEN D. TORRENEGRA G.

Químico.
Profesor Titular
Pontificia Universidad Javeriana
Director GIFUJ
rtorrene@javeriana.edu.co

ANTONIO J. GUZMÁN A.

Candidato a MSc. en Ciencias Biológicas con Énfasis en Fitoquímica.
Profesor Cátedra
Universidad Distrital Francisco José de Caldas
antoniojguzman@hotmail.com

OSCAR E. RODRIGUEZ A.

M.Sc. en Biología con énfasis en Fitoquímica.
Candidato a Doctorado en Ciencias Biológicas.
Profesor Cátedra
Pontificia Universidad Javeriana
oscar-rodriguez@javeriana.edu.co



Figura 1. *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R.M. King & H. Rob.

2.4. Metodología

Se recolectó el material en la ribera del río Chocho, en cercanías al municipio de Silvania (Cundinamarca), tomando hojas (590 g) y flores (200 g) de la especie. Una muestra testigo fue enviada al Herbario Nacional de Colombia, para su clasificación taxonómica bajo el código COL 513810. El material vegetal fue secado a temperatura ambiente y molido. Se obtuvieron en un equipo Soxhlet, extractos en Eter de Petróleo y AcOEt de hojas; mientras que por reflujo se obtuvo un extracto de flores en CH_2Cl_2 . Estos extractos fueron sometidos a fraccionamiento sólido-líquido, y las fracciones obtenidas se procesaron usando cromatografía en capa delgada, en columna y en capa delgada preparativa, usando como soportes Si-gel y la fase reversa RP-18. La actividad antibacteriana de los extractos Eter de Petróleo, CH_2Cl_2 y EtOH, así como sus fracciones fue determinada contra *Escherichia coli* (ATCC 13706) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737), mediante el método de difusión en gel por perforación en placa y empleando como control positivo gentamicina. La actividad contra *Fusarium oxysporum* se determinó mediante el método de macrodilución en placa, usando ketoconazol como control positivo y determinando halos de crecimiento tras dos y seis días [3]. Una vez aislados los constituyentes mayoritarios, se procedió a la toma de su punto de fusión y caracterización por pruebas químicas [5]. Posteriormente se hicieron análisis por UV, empleando los reactivos de desplazamiento para flavonoides en los casos en que fue necesario; ^1H RMN, ^{13}C RMN, COSY, HMQC y HMBC de las sustancias de mayor complejidad.

2.3 Resultados y discusión

Los extractos y fracciones analizados no presentaron actividad contra *Escherichia coli*. Para *Staphylococcus aureus*, se observó actividad moderada. El ensayo de actividad antifúngica arrojó porcentajes de inhibición

superiores al 30%, destacándose los extractos EtOH de hojas y CH_2Cl_2 de flores.

A partir del extracto de éter de petróleo de hojas se obtuvieron 6 sustancias (denominadas CS2-CS6 y CS13) por medio de técnicas cromatográficas, del mismo modo se obtuvieron 4 sustancias (denominadas CS7 a CS11) del extracto de acetato de etilo y una sustancia (CS12) del extracto en CH_2Cl_2 de flores.

Muestra	Concentración (μg)	Halo de inhibición promedio (mm)
Gentamicina (+)	500	26
Hojas Petrol	2000	16
Hojas CH_2Cl_2	2000	17
Hojas EtOH	2000	15,5
Hojas CH_2Cl_2 :Petrol 1:1	1000	15,5
Hojas CH_2Cl_2 :EtOH 1:1	1000	16
Flores Petrol	2000	14,5
Flores CH_2Cl_2	2000	12,5
Flores EtOH	2000	11,5

Tabla 1. Promedio de los halos de inhibición de los extractos y fracciones de *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R. M. King & H. Rob. contra *Staphylococcus aureus*.

Extracto-Control	Concentración	2 días	6 días
DMSO (-)	99 %	0,00	0,00
Ketoconazol (+)	50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	32,35	77,35
Hojas Petrol	2 mg/mL	29,41	54,71
Hojas CH_2Cl_2	2 mg/mL	52,94	43,39
Hojas EtOH	2 mg/mL	55,88	80,18
Hojas CH_2Cl_2 :Petrol 1:1	2 mg/mL	61,00	85,21
Flores Petrol	2 mg/mL	50,00	33,96
Flores CH_2Cl_2	2 mg/mL	52,94	76,41
Flores EtOH	2 mg/mL	58,82	67,92
Flores CH_2Cl_2 :Petrol 1:1	2 mg/mL	63,00	86,25

Tabla 2. Porcentajes de inhibición de los extractos y fracciones de *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R. M. King & H. Rob. contra *Fusarium oxysporum*.

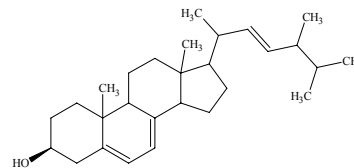


Figura 2. Estructura del β -estigmasterol (Sustancia CS3)

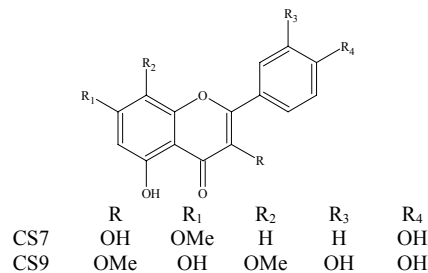


Figura 3. Estructura de los flavonoides CS7 y CS9.

Se ha determinado la estructura de las sustancias CS3, CS7, CS9

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados del presente estudio permiten concluir que los extractos y fracciones de diferente polaridad de *Chromolaena subscandens* (Hieron.) R. M. King & H. Rob., presentan una alta actividad antifúngica y una acción moderada contra bacterias Gram-positivas. Al obtenerse como sustancias mayoritarias metabolitos en su mayoría no reportados por los estudios previos, se puede concluir que la variación en las sustancias obtenidas en la especie se debe a la incidencia del ambiente en el cual se realiza su recolección. Se recomienda evaluar otros tipos de actividad para ampliar el rango de acción de la especie.

4. BIBLIOGRAFÍA

[1] LASSER T. 1970. *Flora de Venezuela*. Instituto Botánico. Dirección de recursos Renovables Naturales. Vol. X Parte primera. p.119-145.

[2] KING R., ROBINSON H., 1970. *Phytologia*. Vol. 20. No. 3. p. 196-209.

[3] Hidalgo Baez D, de los Rios C, Crescente O, Caserta A. Related Articles, -1998. Antibacterial and chemical evaluation of *Chromolaena moritziana*. - J Ethnopharmacol. Jan;59(3):203-6

[4] Barua R. N., Sharma R. P., Thyagarajan G. and Werner Hertz. 1978. Flavonoids of *Chromolaena odorata*. *Phytochemistry*, 17(10): 1807-1808

[5] CANNELL Richard J. *Natural Products Isolation*, Humana press. 1998.