

## Evaluación fitoquímica y de actividad antimicrobiana de dos extractos de plantas amazónicas

Martinez-Cotacio, Cesar A., Vinasco-Sandoval, Gloria T., Romero-Salinas, Gladys. C., Correa-Munera, Marco A., Rodríguez-Perez, Wilson, Urrea-Bulla, Angelica M. & Castro-Castro, Teofilo E\*

Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de la Amazonia, Florencia, Caquetá

Recibido, 8 de Noviembre 2005; aceptado 5 de Marzo de 2006

### Resumen

Se hicieron análisis fitoquímico preliminar y antimicrobiano a los extractos etanólicos y las fracciones de éter de petróleo y acetato de etilo obtenidas por partición líquido-líquido, de las plantas amazónicas: *Crepidospermum goudotianum* (Bursaceae) e *Irlbachia alata* (Gentianaceae). Las dos plantas presentaron alcaloides, fenoles, cumarinas, saponinas, esteroides y/o triterpenoides. La fracción de éter de petróleo de *C. goudotianum* presentó actividad antifúngica frente a *C. albicans*.

Palabras clave: *Crepidospermum goudotianum*, *Irlbachia alata*, *Candida albicans*, fitoquímica, bioensayos.

### Abstract

Phytochemical preliminar and antimicrobial analysis were carried out in ethanolic extracts and petroleum ether and ethyl acetate fractions obtained by partition liquid-liquid from two Amazonian plants: *Crepidospermum goudotianum* (Bursaceae) and *Irlbachia alata*, (Gentianaceae). Alkaloids, phenols, coumarins, saponins, steroids and/or triterpenoids were detected in both plants. Petroleum ether fraction of *C. goudotianum* showed antifungal activity against *C. albicans*.

Keywords: *Crepidospermum goudotianum*, *Irlbachia alata*, *C. albicans*, phytochemistry, bioassay.

### Introducción

La familia Bursaceae esta distribuida hacia los trópicos del mundo entero, contiene 17 géneros y aproximadamente 700 especies. Algunas especies de esta familia son utilizadas como descongestionante en el tratamiento de catarros, (Schultes & Raffauf 1990), para el tratamiento de hernias, luxaciones, asma, diarreas, cálculos renales y mordeduras de serpientes, entre otras (Yasunaka *et al.* 2005). En cuanto a los estudios de actividad biológica se tiene reporte del extracto de hojas y tallos de *Bursera simaruba* que posee actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* y dos cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilicina (Yasunaka *et al.* 2005), el extracto de hojas de *B. simaruba* presenta actividad antiinflamatoria (Noguera *et al.* 2004) y el extracto de las raíces de *Bursera tonkinensis* actividad citotóxica (Jutiviboonsuk *et al.* 2005).

Especies pertenecientes a los géneros *Swertia*,

*Genciana*, *Halenia*, *Frasera*, *Conscora* y *Shultesia* son ricas en metabolitos secundarios tales como xantonas, terpenos ( Kawahara *et al.* 2000), flavonoides (Goetz *et al.* 1976) esteroides y/o triterpenos (Al-Howiring *et al.* 2005) y lignanos (Jitviboonsuk *et al.* 2005). Para la especie *C. goudotianum*, en particular no se tienen reportes de estudios previos.

Por otra parte, la familia Gentianaceae esta constituida por hierbas, arbustos o árboles pequeños y algunas veces micoparasitas (Judd *et al.* 1999); el orden Gentianales, consta de 5 familias: Loganiaceae, Rubiaceae, Apocynaceae, Gelsemiaceae y Gentianaceae, que comprende aproximadamente 1000 géneros y cerca de 1400 especies (Cronquist 1981, Soltis *et al.* 2005). Reportes de plantas pertenecientes a la familia Gentianaceae indican actividad hepatoprotectiva para *Genciana Olivieri* (Orhan *et al.* 2003) y actividad diurética para *Centaurium erythraea* (Haloui *et al.* 2000).

Autor Correspondencia: email: [teocastro@yahoo.com](mailto:teocastro@yahoo.com)

Los estudios fitoquímicos de las especies de la familia Gentianaceae revelan que los metabolitos más abundantes corresponden a las xantonas; se encontraron reporte para veinticinco especies con este tipo de compuestos (Stout *et al*, 1969, Saboor *et al*, 1973, Shibnath *et al*. 1975, Khetwal & Bisht 1988, Asthana *et al*, 1991). Los iridiodes se reportan en siete especies (Uesato *et al*, 1979, Das *et al*, 1984, Chulia *et al*, 1994, Tan *et al*, 1996), flavonoides en diez especies (Goetz *et al*, 1976, Schaufelberger *et al*, 1987, Mourad *et al*, 1990, Kaouadji *et al*, 1990, Chulia *et al*, 1996) y en siete especies se reportó terpenos (Rajive *et al*, 1988, Ajit *et al*, 1991, Ying-Jun *et al*, 1994, Kuwajima *et al*, 1996, Edet 1998, Kawahara *et al*, 2000). *Irlbachia* es un género clasificado en la familia Gentianaceae; compuesto por hierbas de sitios abiertos, por debajo de 1900 m de altitud, (Judd *et al*. 1999). Para esta especie se ha reportado actividad antimalárica (Bertani *et al* 2005), antiinflamatoria, usos para el tratamiento de diarreicos y de la piel, (Frausin 2004) y para la mordedura de serpiente (Otero 2000).

En el presente trabajo se muestran los resultados de los estudios fitoquímicos preliminares y de actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de frutos de *Crepidospermum goudotianum* y de hojas de *Irlbachia alata* y las fracciones correspondientes de la partición líquido-líquido con éter de petróleo y acetato de etilo.

## Metodología

### Recolección del material

Los frutos de *Crepidospermum goudotianum* se colectaron en la sede social de la UNIAMAZONIA, con una altitud de 312m, localizada a 4 Km del casco Urbano de la ciudad de Florencia en la vereda Santo Domingo y cerca de la quebrada La Yuca. Las hojas de *Irlbachia alata* se colectaron en la finca La Esperanza vereda el Carmelo del municipio de Puerto Rico y en la granja Santo Domingo, en la vereda Sebastopol y en la sede centro de la Universidad de la Amazonía en el municipio de Florencia. Los especímenes fueron colectados en noviembre de 2005. La determinación taxonómica de los especímenes las llevó a cabo el Biólogo Marco Aurelio Correa, Director del herbario HUAZ, de la Universidad de la Amazonía, Florencia-Caquetá. Los especímenes fueron secados y montados con su ficha correspondiente y depositados en el

herbario de la Universidad de la Amazonía (HUAZ), como colección de referencia, bajo normas internacionales para colecciones botánicas.

### Obtención y fraccionamiento de los extractos etanólicos

El material vegetal fue secado en un horno, por 6 días a una temperatura de 50 °C; el material molido se maceró con etanol al 95%; después de la maceración, el solvente fue destilado a presión reducida en un evaporador rotatorio y se obtuvo extracto etanólico (EtOH). Del extracto etanólico, que se denominará también extracto total, se tomó una parte que posteriormente se fraccionó por particiones líquido-líquido con éter de petróleo (EP) y acetato de etilo (AcOEt). De la partición se obtuvieron dos nuevos extractos uno de éter de petróleo (EP) y otro de acetato de etilo (AcOEt).

### Evaluación fitoquímica

Se hicieron pruebas de coloración y precipitación en tubo de ensayo para determinar la presencia de metabolitos secundarios siguiendo la metodología de las guías de Sanabria (1983). Los siguientes reactivos: Dragendorff, Meyer y Reinekato de amonio se utilizaron para verificar si los extractos tenían alcaloides; el reactivo de Shinoda para flavonoides; vapores de amoniaco para cumarinas; cloruro férrico al 10% (FeCl<sub>3</sub> 10%) para fenoles y taninos; hemólisis de glóbulos rojos para saponinas y el hidróxido de sodio al 5% para antraquinonas. Para corroborar los resultados anteriores obtenidos en las pruebas de tubo de ensayo se realizaron pruebas adicionales de identificación por cromatografía en capa delgada (CCD) usando reveladores adecuados.

### Evaluación de la actividad antimicrobiana

Se llevó a cabo ensayos de actividad antimicrobiana (Mclaughlin 1982) mediante la técnica de los sensidiscos de papel, el cual consiste en saturar los discos con las muestras suspendidas en agua a 1000 ppm y dimetilsulfóxido (DMSO) al 1% y posteriormente se colocan sobre el cultivo del microorganismo y se incuban a 37 C por 24 horas, en el caso de las bacterias y en el caso de la levadura 48 horas, tiempo después del cual se verifica la aparición de un halo de inhibición en el caso de que la muestra tenga actividad (Castro 2004). Las cepas utilizadas fueron: *Candida*

*albicans*, *Staphylococcus aureus* 6538, *Escherichia coli* 10536 y *Pseudomona* sp.

En el ensayo se empleo la curva de calibración de McFarland, con el fin de conocer las unidades formadoras de colonia, (UFC) que se emplearon para inocular el medio de cultivo (Castro, 2004).

A los extractos que presentaron actividad antimicrobiana se les realizó pruebas para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) en cada una de las cepas.

Tabla 1. Análisis fitoquímico preliminar de los frutos de *C. goudotianum* y las hojas de *I. alata*.

Extracto	<i>C. goudotianum</i>			<i>I. alata</i>		
	EtOH	EP	AcOEt	EtOH	EP	AcOEt
Alcaloides	++	++	++	++	+	+
Fenoles	+++	+	++	+++	+	++
Flavonoides	-	-	-	-	-	-
Nafto / antraquinonas	-	-	-	++	++	++
Cumarinas	++	+++	+	+++	+	++
Taninos	-	-	-	++	+	-
Saponinas	++	+	+	+++	-	-
Esteroides/ triterpenoides	+	+++	+	+	+	+

Metabolito; EtOH: extracto etanólico; EP: Extracto éter de petróleo; AcOEt: Extracto acetato de etilo (+++) Alta concentración del metabolito; (++) Mediana concentración del metabolito; (+) Presencia mínima del metabolito, (-) No hay presencia del metabolito.

compuestos fenólicos se puede explicar probablemente por los compuestos de tipo lignano con grupos hidroxifenílicos presentes en los frutos ó por la presencia de alcaloides fenólicos. En cuanto a los resultados para esteroides y/o triterpenoides coincide con lo reportado para plantas de la familia.

En la tabla 1, se observa que los esteroides y/o triterpenoides son extraídas principalmente en la fracción de éter de petróleo, en tanto que los alcaloides de baja polaridad se distribuyen en la fracción de éter de petróleo y los más polares en la fracción de acetato de etilo. También se observa que los compuestos fenólicos son más solubles en acetato de etilo mientras que las cumarinas lo son en éter de petróleo.

Para *I. alata* se determinó la presencia de alcaloides, fenoles, nafto y/o antraquinonas, cumarinas taninos, saponinas y esteroides y/o triterpenoides. Se puede ver que estos metabolitos se distribuyen homogéneamente en las fracciones de éter de petróleo y acetato de etilo; en el extracto etanólico se registra un alto contenido de saponinas, cuya ausencia en las fracciones de acetato de etilo y éter de petróleo se debió a que fueron solubilizadas principalmente en la fase acuosa del tratamiento preliminar. Con respecto a la literatura los resultados de *I. alata* coinciden en lo referente a la presencia de compuestos

## Resultados y Discusión

Como se observa en la tabla 1 *C. goudotianum* contiene alcaloides, compuestos fenólicos, cumarinas, esteroides y/o triterpenoides y saponinas, carece de flavonoides, nafto y/o antraquinonas y taninos. Teniendo en cuenta que *C. goudotianum* no tiene los compuestos con núcleos fenólicos típicos de flavonoides, taninos, nafto y/o antraquinonas, la presencia de los

fenólicos, esteroides y/o triterpenoides. Los compuestos fenólicos probablemente con el núcleo de las xantonas son metabolitos comunes a esta familia.

Respecto de la actividad biológica se detectó actividad antifúngica frente a *C. albicans* en la fracción de éter de petróleo proveniente del fruto de *C. goudotianum* (tabla 2). Se determinó que la concentración mínima inhibitoria de la fracción fue de 1000 ppm.

Tabla 2. Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolicos (EtOH) y de éter de petróleo (EP) de *C. goudotianum*

Extracto	Microorganismo			
	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
EtOH	-	-	-	-
EP	+	-	-	-

(-) no presento actividad; (+) Presento actividad

En conclusión, se detectaron alcaloides, fenoles cumarinas saponinas, esteroides y/o triterpenoides en el fruto de *C. goudotianum*. En las hojas de *I. alata* se detectó presencia de alcaloides, fenoles nafto y/o antraquinonas, cumarinas, taninos, saponinas, esteroides y/o triterpenoides. Adicionalmente, la fracción de éter de petróleo de los frutos de *C. goudotianum* presentó actividad antifúngica frente a la

levadura *C. albicans*, con una concentración mínima inhibitoria de 1000 ppm

## Agradecimientos

Al Dr. César Augusto Estrada, Vicerrector de Investigaciones (Universidad de la Amazonia) por la financiación, Al Dr. Milton Crosby del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional sede Bogotá por facilitar las cepas usadas en este trabajo.

## Literatura citada

Ajit K., Sibabrata M. & Binayak D. 1991. Swertane triterpenoids from *Swertia chirata*. *Phytochemistry* 30: S95-S100.

Al-howiriny T., Manssur M., Al-said. A., M. El-tahir K & Rafatullah, S. 2005. Effect of *Commiphora opobalsamum* (L.) Engl. (Balessan) on experimental gastric ulcers and secretion in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 98: 287-294.

Asthana R. K., Sharma K, Kulshreshtha K. & Chatterjee K. 1991. A xanthone from *Swertia chirayita*. *Phytochemistry* 30: 941-944.

Bertani. S., Bourdy. G, Landau. I, Robinson. J, C, Esterre. Ph, D e h a r o . E . 2 0 0 5 . Evaluation of French Guiana traditional antimalarial remedies. *Journal of Ethnopharmacology* 98: 45-54.

Castro, E. 2004. Estudio Fitoquímico, Evaluación de la Citotoxicidad y Toxicidad Aguda de los Extractos Etanólicos de Hojas, Corteza y Madera de *Virola venosa* (Myristicaceae). Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Química.

Cronquist A. 1981. An integrates system of classification of flowering plants. Colombia University press New York. Botánica garden.

Chulia A., Vercauteren J. & Kaouadji M. 1994. Depresteroside, a mixed iridoid-secoiridoid structure from *Gentiana depressa*. *Phytochemistry* 36: 139-143.

Chulia A., Vercauteren J. & Mariotte A. M. 1996. Iridoids and flavones from *Gentiana depressa*. *Phytochemistry* 42: 344-347.

Das S., Barua R. N., Sharma R. P., Baruah J. N., Kulanthaiavel P. & Herz W. 1984. Secoiridoids from *Exacum tetragonum*. *Phytochemistry* 23: 729-735.

Edeh M. A. 1998. Two triterpenoids from *Gentiana neurotheca*. *Phytochemistry* 48: 77-81.

Fräusin G. 2004. Plantas medicinales utilizadas en el área rural del Florencia-Caquetà (Colombia). Trabajo de grado. Programa de Biología. Universidad de la Amazonia.

Goetz M, Hostettmann K & André J-G. 1976. A new C-glycosylflavone from *Gentiana asclepiadea*; *Phytochemistry* 15: 125-130.

Haloui M, Louedec L, Baptiste J. M. & Lyoussi B. 2000. Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaureum erythraea*. *Journal of Ethnopharmacology* 71 : 96-115.

Jutiviboonsuk A, Zhang H, Teng Tan G, Ma C, Van Hung N, Manh Cuong N, Bunyapraphatsara N, Soejarto D, Fong H. 2005. Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* 66: 2745-2751

Judd W. S, Compbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. 1999. Plant Systematics a phylogenetic approach. Sinauer Associate, Inc. Publishers sunderland, Massachusetts, U.S.A.

Kaouadji M., Amidou, D., Mariotte, A. M., Chulia, A. J. & Thomasson F. 1990. Flavonol triglycosides from *Blackstonia perfoliata*. *Phytochemistry* 29: 219-240.

Kawahara N, Nozawa M, Flores D, Bonilla P, Sekita S & Satake M. 2000. Sesterterpenoid from *Gentiana alborosea*. *Phytochemistry* 53: 819-830.

Khetwal K. S. & Bisht R. S. 1988. A xanthone glycoside from *Swertia speciosa*. *Phytochemistry* 27: 1200-1226.

Kuwajima H., Shibano N., Baba T., Takaishi K., Inoue K. & Shingu T. 1996. An acetophenone glycoside from *Exacum affine*. *Phytochemistry* 41: 289-292.

Mourad K. 1990. Flavonol diglycosides from *Blackstonia perfoliata*. *Phytochemistry* 29: 322-340.

Orhan D. D., Aslan M., Aktay G., Ergun E., Yesilada E. & Ergui F. 2003. Evaluation of hepatoprotective effect of *Gentiana olivieri* herbs on subacute administration and isolation of active principle. *Life Sciences* 72: 516-580.

Otero R. P., Funnegra-G, R., Jiménez-R. S. L. 2000. Plantas utilizadas contra mordeduras de serpientes en Antioquia y Chocó, Colombia. Universidad de ANTIOQUIA.

Mclaughlin. J. 1982. Seminario Taller "Bioassays for Antitumor and Pesticide Plants. Bioensayo General de letalidad con *Artemia salina* (Leach). Pardue University West La Fayette. Indiana - Estados Unidos.

Noguera, B. Díaz, E. García, M. San Feliciano, A. López-Perez, J. & Israel, A. 2004. Anti-inflammatory activity of leaf extract and fractions of *Bursera simaruba* (L.) Sarg (Burseraceae). *Journal of Ethnopharmacology* 92: 129-133.

Rajive S. B. K., Kalla A. K. & Dhar K. L. 1988. Triterpenoids from *Swertia petiolata*. *Phytochemistry* 27: 1627-1666.

Sanabria-G. A. 1983. Análisis fitoquímico preliminar, metodología y sus aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae, Bogotá D. E. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia.

Saboora A., Mohammad I. Israr K. M. & Neil G. 1973. Xanthonnes of *Swertia purpurescens*; *Phytochemistry* 12: 986-1011.

Schaufelberger D., Gupta M. P. & Hostettmann K. 1987. Flavonol and secoiridoid glycosides from *Coutoubea spicata*. *Phytochemistry* 26: 1560-1584.

Schultes, R. & Raffauf, R. 1990. The healing forest. Medicinal and toxic plants of the Northwest amazonia. Edinburgh Dioscorides Press. Portland, Oregon.

Shibnath G., Prem V. S. & Ratan K. C. 1975. Xanthonnes of *Swertia bimaculata*. *Phytochemistry* 14: 469-521.

Soltis D. E., Soltis P. S., Endress P. K., Chase M. W. 2005. Phylogeny and Evolution of angiosperms; sinaver assicuatesind, publishers sonderland, Massachusetts.

Stout G. H, Reid B. J. & Breck G. D. 1969. The xanthonnes of *Macroparpea glabra*. *Phytochemistry* 8: 1015-1032.

Tan R. X, Wolfender J. L, Zhang L. X, Ma W. G, Fuzzati N, Marston A. & Hostettmann K. 1996. Acyl secoiridoids and antifungal constituents from *Gentiana macrophylla*. *Phytochemistry* 42: 1305-1313

Uesato S., Hashimoto T. & Intuye H. 1979. Three new secoiridoid glucosides from *Eustoma russellianum*. *Phytochemistry* 18: 526-550.

Yasunaka K, Abe F, Nagayama A, Okabe H, Lozada-Pérez L, Edith López-Villafranco, Estrada E, Aguilar A & Reyes-Chilpa R. 2005. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthonnes. *Journal of Ethnopharmacology* 97: 293-299.

Ying-Jun Z. & Chong-Ren Y. 1994. Two triterpenoids from *Gentiana tibetica*. *Phytochemistry* 36: 402-435