

PERFILES CROMATOGRÁFICOS PRELIMINARES POR GC-MS DE ALGUNAS ESPECIES DE PLANTAS MELASTOMATÁCEAS

RESUMEN

En este trabajo se presenta la determinación de los perfiles quimitaxonómicos de 11 especies de plantas melastomatóceas en fase orgánica. Las fracciones fueron analizadas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas por ionización electrónica (CG-EM/IE), puntualizando compuestos como terpenoides, hidrocarburos saturados e insaturados, compuestos oxigenados y esteroides de valor quimitaxonómico, con el fin de clasificar estas especies según sus metabolitos secundarios.

PALABRAS CLAVES: Perfiles quimitaxonómicos, melastomataceae, CG-EM IE

ABSTRACT

This work presents the determination of the chemotaxonomic profiles of 11 species of melastomataceous plants in organic phase. The fractions were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry by electronic ionization (GC-MS/EI), emphasizing substances of chemotaxonomic value, like terpenoids, saturated and unsaturated hydrocarbons, oxygenated substances and steroids, in order to classify these species according to their secondary metabolites.

KEYWORDS: chemotaxonomic profiles, melastomataceae, GC-MS/EI

JOSÉ HIPÓLITO ISAZA

Profesor Titular
jhisaza@gmail.com

LINA MARCELA OROZCO

marcely147@gmail.com

LINA MARIETH ZULETA

marieth14@gmail.com

DIEGO ALEJANDRO RIVERA

diegorivera19@gmail.com

LEIDY JOHANA TAPIAS

johatapias@gmail.com

LUZ ANGELA VELOZA

Profesor Asociado
lveloza@utp.edu.co

LUZ STELLA RAMIREZ A

Profesor Asociado
luramire@utp.edu.co

Grupo Polifenoles UTP-CENIVAM
Facultad de Tecnología-Escuela de
Química
Universidad Tecnológica de Pereira

1. INTRODUCCIÓN

Las melastomatóceas, Jussieu, es la séptima familia más grande de plantas con flores, posee 166 géneros y 4200-4500 especies, particularmente en las regiones tropicales del Nuevo Mundo. En Suramérica se encuentran 166 géneros, ninguno de los cuales existe de manera natural en el Viejo Mundo^[1]. Las especies de ciertos géneros suelen crecer en sitios húmedos y boscosos de las cordilleras (a veces también en sabanas húmedas y potreros), muchas veces sobre suelos lixiviados y ácidos, ricos en aluminio, o sobre materia orgánica (hojarasca y troncos en descomposición) y aún sobre suelos turbosos^[2].

La familia melastomatócea ha sido escasamente estudiada desde el punto de vista fitoquímico y quimitaxonómico. Aunque un gran número de compuestos han sido aislados, sólo unas pocas especies han sido estudiadas ampliamente. Los mayores constituyentes de esta familia son compuestos polifenólicos, principalmente taninos hidrolizables oligoméricos de pesos moleculares superiores o iguales a 3800, algunos flavonoides y antocianinas aciladas^[3].

En el presente trabajo se evaluaron los extractos orgánicos provenientes de las hojas de 11 especies de plantas melastomatóceas, encontrándose metabolitos de baja y mediana polaridad, tales como terpenoides y esteroides, los cuales pueden ser usados como marcadores quimitaxonómicos.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Material Vegetal.

Las 11 especies de plantas melastomatóceas se nombran a continuación junto con el lugar de procedencia.

Miconia dolichorrhyncha Naud (**M.d**), *Miconia trinervia* (Sw) (**M.t**), *Tibouchina minutiflora* Cogn (**T.m**), fueron colectadas e identificadas por la Dra. Luz Mila Quiñones de la Universidad de los Llanos Orientales (Villavicencio); la especie *Tibouchina ciliaris* (Vent.) Cogn (**T.c**), fue colectada por José H. Isaza M. en la vía Armenia e identificadas por el Dr. Frank Almeda de la Academia de Ciencias de California; y las especies *Miconia coronata* (Bonpl) DC (**M.c**), *Miconia aeruginosa* Naud (**M.a**), fueron colectadas por José H. Isaza M. en la vereda La Bananera a orillas del río Otún e

identificadas por el Dr. Carlos Parra del Herbario Nacional de Colombia; las especies *Bellucia pentamera* Naudin (**B.p**), *Bellucia grossularioides* (L.) Triana (**B.g**), *Tococa guianensis* Aubl (**T.g**), *Aciotis purpurascens* (Aubl.) Triana (**A.p**), fueron colectadas por Robert Tulio (Fundacofam-Cenivam) en la vereda Babaria via Cumaral (Villavicencio) e identificadas por la Dra. Luz Mila Quiñones; y una especie no identificada (**P.n**) recolectada por José H. Isaza M. en Piangua Grande (Buenaventura).

2.2 Materiales y Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica Acetato de etilo (E.M. Science), *n*-hexano (Merck) acetona (Merck) y diclorometano (Merck), cartuchos de extracción en fase sólida de silicagel (500 mg) (Lichrolut)

2.3 Parámetros Instrumentales Generales

Los equipos utilizados fueron Ultrasonido Fisher Scientific F-S60H, molino de aspas IKA MF 10 Basic y Agitador orbital Heidolph Unimax 1010.

El análisis por cromatografía de gases/espectrometría de masas se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas Shimadzu CG-EM QP-2010, equipado con un autoinyector AOC-20i, automuestreador AOC-20s, inyección Split/splitless, modo de ionización EI/SCI/NCI y sonda de inserción directa controlada por el software CGMS solution. Columna marca Restek (Rxt-CL Pesticides) de 30 m x 0.25 mm d.i x 0.25 mm de película. El método cromatográfico/espectrométrico utilizado corresponde a una temperatura de horno de 200 °C, temperatura de inyección de 300 °C, modo de inyección split que varía de 10:1 a 30:1 dependiendo de la concentración de las especies, modo de control de flujo velocidad lineal, flujo de la columna de 0.60 mL/min, velocidad lineal de 30 cm/s, gas de arrastre helio, temperatura de la fuente de iones de 230 °C, temperatura de la interfase de 280 °C, tiempo de inicio de 4 min, tiempo de finalización de 30 min, intervalo de 0.30 s, inicio *m/z* de 35, finalización *m/z* de 1000.

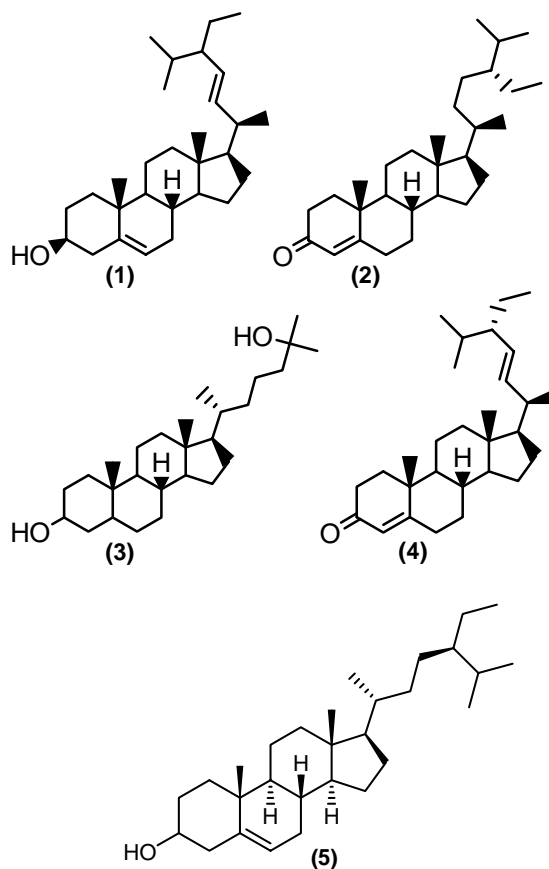
2.4 Proceso de Extracción

Las hojas secas y molidas (1g) fueron homogenizadas por triplicado en 20 mL de acetato de etilo en ultrasonido y filtradas por gravedad, seguido de un homogenizado del residuo de la primera extracción nuevamente con 20 mL de acetato de etilo en agitador orbital. Finalmente el extracto total fue diluido en 5 mL de diclorometano y pasado por un cartucho de extracción en fase sólida silicagel (500 mg), y luego de ser secado, pesado y rediluido en 1 mL de acetato de etilo cada fracción fue analizada por CG-EM IE.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las 11 especies de plantas melastomatáceas se identificaron 17 compuestos mayoritarios que permitieron realizar una clasificación quimiotaxonómica preliminar utilizando compuestos comunes entre especies de un mismo o de diversos géneros. La Tabla 1 muestra los compuestos ordenados por tiempo de retención, la identificación se realizó por análisis de los espectros de masas y por comparación con los espectros de la librería Wiley (Séptima edición 2003).

Cinco de los diecisiete metabolitos mayoritarios corresponden a los esteroides: estigmasterol (**1**), estigmasterol-4-en-3-ona (**2**), colestano-3,25-diol (**3**), 4,22-estigmastadieno-3-ona (**4**) y γ -sitosterol (**5**).



En las especies *Aciotis purpurascens* (**A.p**) y *Bellucia grossularioides* (**B.g**) se identificó el estigmasterol (**1**) (24-etil-5,22-colestadien-3- β -ol) (t_R 16.1 min) con 90 % de similaridad, y un porcentaje de área de 27.0 ± 0.1 y 4.7 ± 0.5 en cada especie respectivamente. La fórmula molecular, $C_{29}H_{48}O$, es consistente con el pico de ión molecular observado a *m/z* 412 (Fig.1). Este pico fue evidenciado por dos pérdidas químicamente significativas de 15 y 18 uma, correspondientes a el radical libre metilo y a una molécula de agua respectivamente, generando los picos a *m/z* 397 [$M-CH_3$] $^+$ y a *m/z* 394 [$M-H_2O$] $^+$.

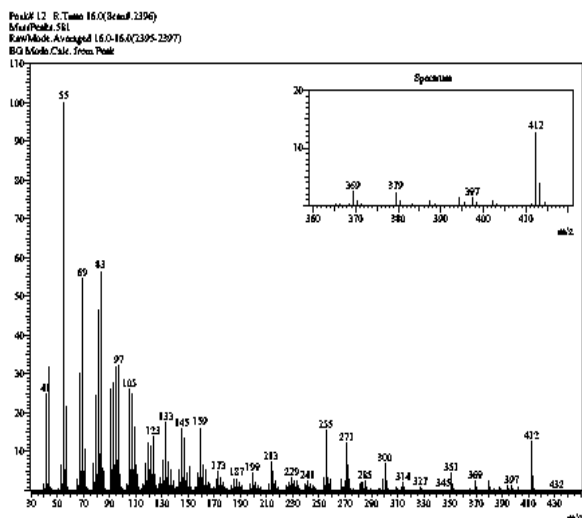


Figura 1. Espectro de masas del compuesto 1

En las especies *Miconia aeruginosa* (*M.a*) y *Tibouchina ciliaris* (*T.c*) se identificó el estigmasterol-4-en-3-ona (**2**) (t_R 18.9 min) por comparación con la librería Wiley con 93 % de similaridad, y un porcentaje de área de 13.6 ± 0.1 y 22.0 ± 0.9 en cada especie respectivamente, cuya fórmula molecular es $C_{29}H_{48}O$ (Mr 412). Una fragmentación significativa representada por el pico de m/z 271 es consecuencia de la pérdida de la cadena lateral correspondiente a 141 una para dar el ión $[M-C_{10}H_{21}]^+$

En la especie *Bellucia grossularioides* (*B.g*) se identificó el colestano-3,25-diol (**3**) (t_R 18.4 min) por comparación con la librería Wiley con 85 % de similaridad, y un porcentaje de área 7.7 ± 0.2 , cuya fórmula molecular $C_{27}H_{48}O_2$ (Mr 404). El ión fragmento $[M-H_2O]^+$ m/z 386 indica la presencia de hidroxilos, seguido del fragmento m/z 371 producido por la pérdida de un radical metilo.

		% Área relativo													
#	Compuesto	t_R (min)	Pico Base	[M] ⁺	<i>A.p</i>	<i>B.g</i>	<i>B.g</i>	<i>M.a</i>	<i>M.c</i>	<i>M.d</i>	<i>M.t</i>	<i>T.c</i>	<i>T.m</i>	<i>T.g</i>	<i>Pn</i>
1	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	4,64	43	268	8,4	14,3		5,5		18,0	4,6				
2	3,7-Dimetil-10-(2-metil-ciclohexil)-7-decen-1-ol	5,00	57	249	9,6					17,4					
3	Fitol	6,23	71	296		4,7					8,6			8,8	
4	Heptacosano	10,47	57	380					6,7				5,7		
5	Escualeno	11,48	69	410			43,5							17,0	
6	Nonacacosano	12,09	57	408		5,4		10,6	15,0	7,9	5,0	4,3			21,4
7	Hentriacontano	13,62	57	436		10,0		9,5	21,9			10,3	6,9		13,6
8	Hidrocarburo ramificado	14,16	57	---				15,0							
9	Estigmasterol	16,10	55	412	27,0	4,7									
10	vitamina E acetato	15,65	430	472										7,9	
11	Tritriacontano	15,05	57	465				6,6	9,9			16,8	35,9		
12	Hentriacontanol	15,61	57	452				8,1			9,7				
13	Neofitadieno	17,48	57	278	7,4	8,2					8,3			7,7	
14	-sitosterol	16,47	43	414					20,2	4,7	22,6	20,4	8,4	11,4	17,7
15	estigmasterol-4-en-3-ona	18,90	124	412				13,6				22,0			
16	colestano-3,25-diol	18,40	386	404		7,7									
17	4,22-estigmastadieno-3-ona	15,90	81	410		7,5									

Tabla 1. Distribución de metabolitos extraídos en fase orgánica de las 11 especies melastomáceas estudiadas por CG-EM (IE).

En la especie *Bellucia grossularioides* con un (t_R 15.92 min) se identificó el 4,22-estigmastadien-3-ona (**4**) por

comparación con el espectro obtenido de la librería Wiley con un 81% de similaridad, y porcentaje de área

7.5 ± 0.3 , cuya fórmula molecular, $C_{29}H_{46}O$, es consistente con el pico de ión molecular m/z 410. El pico de m/z 271 es consecuencia de la pérdida de la cadena lateral correspondiente a 139 uma para dar el ión $[M-C_{10}H_{19}]^+$.

3.1 Análisis quimiotaxonómico

Las dos especies estudiadas de *Bellucia* Neck. ex Raf., aunque pertenecen a un mismo género difieren considerablemente en sus compuestos, de manera que la especie *Bellucia grossularioides* (L.) Triana es rica en compuestos de mediana polaridad, mientras que la especie *Bellucia pentamera* Naudin, solo presenta el compuesto mayoritario, escualeno.

El hidrocarburo saturado nonacosano es un marcador quimiotaxonómico del género *Miconia* Ruiz & Pav, porque es biosintetizado por todas las especies analizadas de este género.

En el género *Tibouchina* Aublet la especie *T. ciliaris* (Vent.) Cogn. se diferencia de la especie *T. multiflora* (Gardn.) Cogn. porque la primera presenta dos compuestos característicos, el nonacosano y el estigmasterol-4-en-3-ona, mientras que la segunda sólo el compuesto heptacosano. En estas dos especies se evidencia la presencia del tritriacontano y el hentriacontano.

En cuanto a las especies *Aciotis purpurascens* D. Don, *Tococa guianensis* Aubl y la especie aún no identificada no es posible establecer un perfil quimiotaxonómico por falta de especies en cada género.

4. CONCLUSIONES

El resultado de estudio permitió distinguir grupos de especies desde el punto de vista fitoquímico.

Esta clasificación quimiotaxonómica además de ser de gran utilidad para la identificación de material vegetal con costos moderados, con ventajas de tiempo y de estado físico de la materia prima, permite añadir evidencia confirmatoria a las clasificaciones de los taxónomos, adicionando información química a los caracteres morfológicos de los vegetales.

Es de notable importancia resaltar la utilidad de esta investigación para la agroindustria, ya que el uso de estos resultados brinda seguridad en la adquisición del material vegetal, permitiendo la confirmación de la identidad de la especie en cuestión por medio de un método rápido y confiable, que conlleve a la manufactura de un producto de calidad competente.

5. AGRADECIMIENTOS

Manifestamos nuestros agradecimientos a COLCIENCIAS-CENIVAM Contrato RC 432 de 2004 por el soporte financiero y al laboratorio de Calidad de Productos Naturales de la Universidad Tecnológica de Pereira por el soporte instrumental.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Renner, S.S., *Phylogeny and Classification of the Melastomataceae and Memecylaceae*. Nord. J. Bot., (1993). 13:519-593
2. Quiñones M., L.M., *Diversidad de la Familia Melastomataceae en la Orinoquia Colombiana*. Facultad de Ciencias, UN. Bogotá DC (2001). p 20-126.
3. Isaza, J.H., Ito, H., Yoshida, T., *Oligomeric hydrolyzable tannins from Monochaetum multiflorum*. Phytochemistry, 2004. **65**(3): 359-67.