

QUÍMICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Chromolaena perglabra*

RESUMEN

Esta investigación se encaminó a determinar los metabolitos secundarios presentes en hojas y tallos de la especie: *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) King & H. Rob., colectada en Tinjacá (Boyacá – Colombia). Se estableció la actividad antiprotozoaria (*leishmaniosis* y *chagas.*) y toxicidad.

Los resultados de este trabajo suministraron herramientas para validar el uso de esta especie considerada maleza. Se encontró actividad significativa *in Vitro* contra agentes causantes de chagas y *leishmaniosis* en algunos extractos y fracciones. Se identificaron esteroides y flavonoides; se estableció de manera preliminar la toxicidad para reconocer parte de los riesgos inherentes a su uso.

PALABRAS CLAVES: *Chromolaena*, *perglabra*, actividad antiparasitaria, *Chagas*, *Leishmaniasis*.

ABSTRACT

This research was directed to determine the secondary metabolites in leaves and stems of the species: Chromolaena perglabra (B.L. Robinson) King & H. Rob., collected in Tinjacá (Boyacá - Colombia). The antiprotozoaria activity (leishmaniosis and chagas.) and toxicity was established.

The results of this work provided tools to validate the use of this species considered weeds. Significant activity in Vitro against agents causes of chagas and leishmaniosis in some extracts and fractions was found. Steroids and flavonoides were identified; the toxicity settled down of preliminary way to recognize part of the inherent risks its use

KEYWORDS: *Chromolaena*, *perglabra*, antiparasitic activity, *Chagas*, *Leishmaniasis*.

1. INTRODUCCIÓN

Especies del género *Chromolaena* consideradas como malezas, presentan actividades antimicrobianas, antiparasitarias y citotóxicas entre otras, con gran variedad de metabolitos secundarios, a los que se les atribuye las actividades anteriormente descritas. Investigamos los metabolitos secundarios que están presentes en las hojas y flores de la especie *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) King & H. Rob., mediante el análisis preliminar y estructural de dichos compuestos, evaluando su actividad antiprotozoaria de acuerdo con los métodos ya conocidos y referenciados para este tipo de ensayos, enmarcado en el proyecto desarrollado actualmente por el GIFUJ, que busca la caracterización química biológica del género *Chromolaena*.

2. CONTENIDO

2.1.1 Descripción botánica del género *Chromolaena*

Plantas herbáceas o arbustos erectos o dispersos en el suelo. Tallos generalmente pubescentes. Hojas simples, generalmente opuestas, sésiles o pecioladas, láminas foliares generalmente elípticas u ovaladas, algunas veces

lineares, glabras, glandulares o pubescentes, comúnmente con triple venación, márgenes casi enteras o lobuladas. Capitulescencias corimbiformes. Capitula discoide, con 5 a 10 flores; de forma aguda a redondeada. La planta no se ramifica con la edad, y eventualmente es decidua, receptáculos alongados planos o cónicos, desnuda, o raramente paleada, glabra. Flores bisexuales corolas con forma de túnel, actinomorfitas, de 5 lóbulos cortos, de color blanco, azul o púrpura. Lóbulos pipilonáceos o glandulares, algunas veces gabros. Anteras blancas, incluidas dentro de la corola. El estilo se ramifica linealmente desde la corola, sobresaliente de la corola con líneas de estigmas pareadas en la parte basal, ápices estériles, base del estilo glabra, carpópodium café, simétrico; mechones de una serie persistente, filamento coloreado, alrededor de 40 cerdas, tan largo como las corolas y más largo que los aquenios. (Foto 1).

2.1.2 Descripción Taxonómica

Familia. Asteraceae; Tribu. Eupatorieae; Género. *Chromolaena*; Especie: *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) King & H. Rob.

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

RUBEN D. TORRENEGRA G.

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

2.2 FITOQUIMICA DEL GENERO *Chromolaena*

Del género *Chromolaena* se han estudiado las especies, *C. leivensis*, *C. opadoclinia*, *C. odorata*, *C. arnottiana*, *C. morii*, *C. collina*, *C. connivens*, *C. glaberrima*, *C. pseudoinsignis*, *C. chasleae*, y se han determinado compuestos de tipo: sesquiterpenos, triterpenos, flavonoides, flavanonoles, ácidos grasos cíclicos, sesquiterpenlactonas, alcaloides pirrolidinicos, diterpenos, ent-clerodanos, prostaglandinas provenientes de ácidos grasos libres, chalconas metiladas, germacranólidos y derivados del labdano.

2.3 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ESPECIES DEL GÉNERO *Chromolaena*

Han realizado varios estudios de actividad biológica en *Chromolaena odorata*, pocos en *Chromolaena hirsute* y *Chromolaena moritziana*. Se ha reportado: actividad pesticida, actividad repelente, efecto antiprotozoario, actividad insecticida, actividad tripanocida, actividad antibacterial, actividad antimicobacterial, citotoxicidad, efecto antioxidante, mutagenicidad, proliferación de queratocitos humanos y proliferación de fibroblastos entre otros.

2.2 METODOLOGIA

2.2.1 Procedencia del material botánico



La especie, se colectó en Tinjacá (Boyacá), el ejemplar fue identificado en el herbario del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia. Como *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) King & H. Robinson : Col 498196

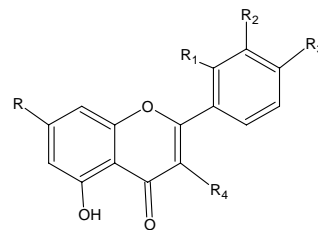
2.2.2 Métodos de extracción e identificación

Se utilizó el Soxhlet como equipo de extracción; los extractos obtenidos se percolaron empleando como soporte sílica gel y solventes de polaridad creciente: Petrol, CH_2Cl_2 , AcOEt, MeOH, EtOH:H₂O; Las diferentes fracciones se procesaron para la separación de los metabolitos secundarios mayoritarios usando técnicas cromatográficas: capa delgada, columna y preparativa; para las fracciones de baja polaridad Si-gel como soporte y RP-18 para las fracciones de media y alta polaridad. Para la identificación se emplearon métodos Espectroscópicos. Ultra Violeta (UV), Infra Rojo (IR), Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (¹H RMN) y de Carbono 13 (¹³C RMN), Espectrometría de Masas (MS).

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del extracto Petrol de hojas obtuvimos:

- Chp1-1: Heptacosano**, C₂₇H₅₆ M_R: 380;
Chp1-2: Hexatriacontano, C₃₆H₇₄ M_R: 506;
Chp1-3: Tetratriacontano, C₄₄H₉₀ M_R: 618;
Chp1-4: Tetraatriacontano, C₃₄H₇₀ M_R: 478;
Chp2-1: stigma-5-22-dien-3 ol, C₂₉H₄₈O M_R: 412;
Chp2-2: (γ-sitosterol), C₂₉H₅₀O M_R: 414;
Chp3: Eicosanol, C₂₀H₄₂O M_R: 298



	R	R1	R2	R3	R4
Chp5	OMe	H	H	H	OH
Chp6	OMe	H	H	OH	H

Figura 1. Estructura de los flavonoides Chp5, Chp6

De la fracción AcOEt obtuvimos:

Chp5:(5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavona): (Genkwanina)

Sólido amarillo (9.8 mg), R_f 0,68 (Si Gel, CHCl₃-Me₂CO 7:3), P.f. 234-235 °C. Prueba de Shinoda positiva. UV λ_{máx} MeOH, Max, nm: 269 (0.86) – 336 (1,00); (AlCl₃); 277 (0,87) – 294s (0,60); 303 (0,69) – 348 (1,00); 384(0,85) (AlCl₃ – HCl) 276 (0.89) – 294s (0,74) 301 (0,79) – 342 (1,00); 382 (0,75)

Chp6 (3,5-dihidroxi-7-metoxiflavona):

Sólido amarillo (8 mg), P.f. 184 °C, Prueba de Shinoda positiva. UV λ_{máx} MeOH, Max, nm: 358.0 (0.471) – 267.5 (0.731) – 241.0 (0.473) - 222.5 (0.307); (AlCl₃); 268.0 (0.665) – 240.5 (0.508); (AlCl₃ – HCl) 348.5 (0.359) – 269.5 (0.584); (NaOMe) 407.5 (0.537) – 273.5 (0.708) – 250.5 (0.667) – 222.5 (0.348); (NaOAc) 406.0 (0.301) – 269.0 (0.515) – 223.5 (0.266); (NaOAc – H₃BO₃) 268.0 (0.496) (H₃BO₃) 359.0 (0.577) – 268.0 (0.880) - 243.5 (0.529).

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados del presente estudio permiten concluir que los extractos y fracciones de diferente polaridad de *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) King & H. Robinson. presentan una actividad moderada frente a amastigotes de *L. panamensis* (Leishmaniosis) y epimastigotes *t.cruzi* (Chagas), además los extractos y fracciones Petrol para hojas y tallos presentan alta toxicidad frente a células U937. Lo que no ocurre con el ex: EtOH de hojas y tallos y la fr: CH₂Cl₂ de ex: EtOH que presentan una moderada toxicidad. Se recomienda identificar los principios activos

**Efectos De Los Extractos Y Fracciones De *Chromolaena perglabra*
Sobre La Línea Celular U937 Y Actividad Antiparasitaria**

<i>Chromolaena perglabra</i>		CITOTOXICIDAD U937	EFECTIVIDAD LEISHMANIOSIS AMASTIGOTES DE <i>L. panamensis</i>		EFECTIVIDAD CHAGAS EPIMASTIGOTES <i>T. cruzi</i>	
TIPO	SOLUBILIDAD	CL ₅₀ (Ug/ml)	% Inh	CL ₅₀	CE ₅₀	% Inh
Ex -HOJAS	PETROL	**0.7	0 ²⁴	0.68	** 12.21	**98.4
Fr -H-1.1	PETROL	33.0	4.4 ³⁰	N	>100	74.5
Fr -H-1.2	PETROL	**2.2	* 53 ²⁴	2.15	15.6	86.9 ^{IV}
Fr -H-1.3	CH ₂ Cl ₂	27.0	34 ³²	27.0	**6.47	**86.1 ^{IV}
Fr -H-1.4	AcOEt	13.8	22.3 ³²	13.8	**12.7	**100
Fr -H-1.5	MeOH	75.0	* 73.5	75.0	24.1	96.2
Fr -H-1.6	EtOH-H ₂ O	50.5	21.5 ²⁶	50.5	71.98	58.1 ^{IV}
Ex -HOJAS	EtOH	164.2	* 59.5	164.2	>100	6.7 ^{IV}
Fr -H-2.1	PETROL	37.2	* 100 ³⁰	37.2	**5.01	**95.0 ^V
Fr -H-2.2	CH ₂ Cl ₂	234.3	48.3	234.3	>200	8.5 ^V
Fr -H-2.3	AcOEt	75.2	21.5	75.2	>200	0 ^V
Fr -H-2.4	EtOH	P	* 67.2	P	>200	2.2
Ex-TALLOS	PETROL	**<1.4	47.6 ²⁴	<1.4	17.01	80.1 ^V
Ex-TALLOS	EtOH	115.8	41.8	115.8	P	P

PROMISORIOS: LEISHMANIA * (CL₅₀ alta y CE₅₀ baja) – CHAGAS ** (CE₅₀ baja y % de Inh alto)

Dosis máximas evaluadas para Leishmania: ²⁴1ug/ml, ²⁵0.2ug/ml, ²⁶40ug/ml, ²⁷0.5ug/ml, ²⁸3.75ug/ml ²⁹3.125ug/ml, ³⁰5ug/ml, ³¹1.25ug/ml, ³²12.5ug/ml, ³³7.5ug/ml, ³⁴2.5ug/ml, ³⁵3.0ug/ml, ³⁶35ug/m

Dosis máxima evaluada para Chagas: **I** 333ug/ml, **II** 250ug/ml, **III** 500 ug/ml, **IV** 100 ug/ml **V** 200ug/ml

Los ensayos biológicos se realizaron en cooperación con la Universidad de Antioquia de acuerdo con los protocolos descritos (Robledo et al. 1999; Weniger et al. 2001)

4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] STEYERMARK J., BERRY P. 1997. *Flora of the Venezuelan Guyana*. Missouri Botanical Garden. Vol. 3. p. 181-195, 247-251.
- [2] LASSER T. 1970. *Flora de Venezuela*. Instituto Botánico. Dirección de recursos Renovables Naturales. Vol. X Parte primera. p.119-145.
- [3] KING R., ROBINSON H., 1970. *Phytologia*. Vol. 20. No. 3. p. 196-209.
- [4] HIERONYMUS G. 1897. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und flanzengeographie*. Leipzig. p. 359-420.
- [5] BOHLMANN F., ZDERO C., FIEDLER L., KING R., ROBINSON H. 1981. *Phytochemistry*. Vol. 20. No 5. p.1141-1143.
- [6] EL-SAYED N. H., MISKI M., WHITTEMORE A. J., MABRY T. J. 1988. *Phytochemistry*, Vol. 27, No. 10. p 3312-3314.
- [7] GUTIERREZ A., CATALAN C., DIAZ J., HERZ W. 1995. *Phytochemistry*. Vol. 39. No 4. p. 795-800.
- [8] BOHLMANN F., SING P., JAKUPOVIC J., KING R., ROBINSON H. 1982. *Phytochemistry*. Vol. 21. No 2. p.371-374.
- [9] BOHLMANN F., GUPTA R., KING R., ROBINSON H. 1981. *Phytochemistry*. Vol. 20. No 6. p. 1417-1418.
- [10] BOHLMANN F., BORTHAKUR N., KING R., ROBINSON H. 1982. *Phytochemistry*. Vol. 21. No 1. p.125-127.
- [11] AHMED A., WHITTEMORE A., MABRY T. 1985. *Phytochemistry*. Vol. 24. No 3. p.605-606.
- [12] CASTILLO G., JAKUPOVIC J., BOHLMANN F., KING R., ROBINSON H. 1989. *Phytochemistry*. Vol. 28. No 2. p.641-642.
- [13] BARUA R. N., SHARMA R. P., THYAGARAJAN G., HERTZ W. 1978. *Phytochemistry*, Vol. 17, No. 10. p. 1807-1808.

[14] AMARO J. M., DELGADO M. *Journal of Natural Products*. Vol. 56. No. 4. p. 610-612.

[15] BAEZ D., RIOS C., CRESCENTE O., CASERTA, A. 1998. *Journal of Ethnopharmacology*. No. 59. p.203-208.

[16] BILLER A., BOPPRE M., WITTE L., HARTMANN T. 1994. *Phytochemistry*. Vol. 35. No 3. p.615-619.

[17] IROBI N. O. 1992. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 37, No. 1. p.81-83.

[18] THANG P. T., SEE P., LEE S. T., CHAN S. Y. 2001. *Burns*, Vol. 27, No. 4. p. 319-327.

[19]ROBLEDO SM, VALENCIA AZ, SARAVIA NG. 1999 Sensitivity to glucantime of *Leishmania (Viannia)* isolates from patients prior to treatment. *Journal Parasitology*, 85,360-366

[20]WENIGWE B, ROBLEDO SM, ARANGO GJ, DEHARO E, ARAGÓN R, MUÑOZ V, CAPALLA J, LOBSTEIN A, ANTÓN R, 2001. Antiprotozoal activities of Colombian plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 78:193-200

[21] B. 1970. *The systematic identification of flavonoids*. Springer-Verlag. Berlín.

[22] *CHROMOLAENA DC., Prodr. 5: 133. 1836. Eupatorium sect. Chromolaena (DC.) Benth. Ex Baker in Mart., Fl. Bras. 6(2): 300. 1876*

[23] *Eupatorium sect. Cyllindrocephala DC., Prodr. 5: 141. 1836*

[24] *OSMIA (Sch. Bip.) Benth. Ex Baker in Mart., Fl. Bras. 6(2): 275. 1876*