

CONTRIBUCION AL ESTUDIO QUÍMICO Y DE BIOACTIVIDAD DE DOS ESPECIES NATIVAS : (*Croton bogotanus*.Cuatr. y *Croton funckianus*.Cuatr.) EUPHORBIACEAE

RESUMEN

Los extractos etanólicos de las hojas verdes y senescentes de las especies nativas *Croton bogotanus* y *Croton funckianus* (Euphorbiaceae) fueron evaluados por los siguientes ensayos: a) bioensayo general de letalidad frente a larvas del crustáceo *Artemia salina* (Leach) y bioensayo específico con larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say). El extracto de las hojas senescentes de *C. funckianus* mostró los mejores resultados y su estudio químico preliminar permitió detectar la presencia de flavonoides y derivados diterpénicos como metabolitos principales del extracto activo.

PALABRAS CLAVE: Euphorbiaceae, *Croton bogotanus*, *Croton funckianus*, *Artemia salina*, *Culex quinquefasciatus*.

ABSTRACT

The ethanolic extracts from stay-green and senescent leaves of *Croton bogotanus* and *Croton funckianus* (Euphorbiaceae) were tested by brine shrimp toxicity assay and *Culex quinquefasciatus* larvicide bioassay. The extract from *C. funckianus* senescent leaves showed a significant activity. The preliminary chemical study provide evidence for the existence of flavonoids and diterpenic derivatives as major constituents of the active fraction.

KEYWORDS: Euphorbiaceae, *Croton bogotanus*, *Croton funckianus*, brine shrimp test, *Culex quinquefasciatus*..

1. INTRODUCCIÓN

Desde la última década, en la búsqueda de alternativas a los pesticidas sintéticos, los metabolitos secundarios de las plantas se proyectan como el futuro en agentes de control de insectos-plaga porque han mostrado notable actividad como atrayentes, repelentes, tóxicos de contacto, inhibidores de crecimiento y de oviposición [1,2]

La familia Euphorbiaceae esta conformada por alrededor 200 géneros y 7000 especies; el género *Croton* (subfamilia Crotonoideae, tribu Crotonae), es uno de los más grandes de las plantas con flores con 1223 especies de hierbas, arbustos, árboles y lianas ecológicamente notables de la vegetación secundaria en trópicos y subtropicos alrededor del mundo [3]. Algunas especies del género *Croton* son utilizadas ampliamente en medicina tradicional en África, Asia y Sur América y han mostrado tener una interesante actividad en el tratamiento de úlceras gástricas[4], leishmaniasis [5] como anti-inflamatorio [6], anti-oxidante [7], anti-malárico [8], anti-leucémico [9], anti- HIV [10], como antiofídico [11] y en el control de insectos [12].

En Colombia el género *Croton* ha sido poco estudiado; la especie *C. malambo*, conocida como “palomatias” crece al norte de Colombia y es usado en infusión para el tratamiento de diabetes, diarrea, reumatismo, úlcera gástrica y como analgésico en medicina tradicional [13]; el extracto acuoso de la corteza demostró actividad anti-inflamatoria y su estudio químico condujo a derivados de

RODOLFO QUEVEDO

Químico, Dr. Sc.
Profesor Asistente
Universidad Nacional de Colombia
arquevedop@unal.edu.co

LORENA NUÑEZ

Estudiante de Química
Universidad Nacional de Colombia

BÁRBARA MORENO-MURILLO

Químico, Especialista
Profesora Asistente
Universidad Nacional de Colombia
bdmorenom@unal.edu.co

eugenol, elemicina y cadinol [14]. *C. schiedeanus*, conocida como “almizclillo” crece principalmente en la amazonia y regiones de Cundinamarca donde es utilizada para el tratamiento de la hipertensión, su estudio químico condujo a derivados de quercetina con actividad vaso-relajante y anti-hipertensiva [15].

La variada actividad y riqueza estructural de los compuestos de especies del género *Croton* y el escaso conocimiento de su bioactividad y composición química de las especies colombianas nos motivo a realizar un estudio comparativo de hojas verdes y senescentes de las especies *C. bogotanus* y *C. funckianus* recolectadas en la región andina. En este trabajo se presentan los resultados preliminares de los bioensayos y la caracterización parcial de los constituyentes mayoritarios.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal . Las hojas frescas verdes y senescentes de las dos especies se recolectaron en el Jardín Botánico del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional, sede Bogotá en marzo del 2006, y ejemplares reposan en el Herbario Nacional Colombiano, sede Bogotá.

2.2. Extracción y purificación. Las muestras frescas y secas se extrajeron de forma inmediata en etanol de 96% por percolación en frío por una semana con renovación del disolvente. Los extractos crudos filtrados fueron

concentrados a PR (40 °C) y sometidos a evaluación biológica.

2.3. Bioensayos

La bioactividad de los extractos crudos se evaluó frente a nauplios de *A. salina* como ensayo general de letalidad BGL-As [16] y con larvas de 3° estadio del mosquito *C. quinquefasciatus*, como ensayo específico BAL-Cq [17]. Como referencia se utilizó metilparabeno (Mp); los datos fueron procesados con el programa Probit y se expresan como valor medio de la concentración efectiva al 50 % (CE₅₀) de tres repeticiones.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Bioensayos. La tabla 1 incluye los resultados de la extracción y de los bioensayos. aplicados

Muestra	Peso	Extracto	BGL-As	BAL-Cq
CB-HV	700	38,87	111	289
CB-HS	280	22,43	190	256
CF-HV	900	43,55	64	198
CF-HS	310	25,03	38	181
Mp.			42,2	---

Tabla 1. Peso en gramos (g) de la muestra, de los extractos crudos y CE₅₀ (µg/mL) obtenida en los dos bioensayos.

Los resultados de bioactividad permitieron seleccionar el extracto de hojas senescentes de *C. funckianus* (CF-HS) denominado **A1**, como el más promisorio para continuar con el estudio químico.

3.3 Análisis cromatográfico.- Los 4 extractos crudos se analizaron por CCD en varios sistemas cromatográficos, en alúmina y gel de sílice, observándose la mejor separación en el sistema gel de sílice/tolueno- MEK 8:2. El extracto de CF-HS (**A1**) libre de clorofilas y con el mejor valor de CE₅₀ en los bioensayos previos presento varias bandas por revelado con luz UV, vapores de yodo, vapores de NH₃ y ácido/Δ, con cinco bandas mayoritarias de diferente comportamiento en las condiciones del análisis, de las cuales tres bandas no se observan al UV y presentan color rosado con ácido / Δ en el sistema tolueno: acetato de etilo (3:1) con valores de R_f de 82, 64 y 30, atribuidos a una familia de compuestos diterpénicos [3]; además con luz UV, se observaron dos bandas que con ácido/ Δ, vapores de NH₃ y FeCl₃ fueron caracterizados como derivados fenólicos, confirmados por prueba de Shinoda como flavonoides con valores de R_f de 50 y 15 respectivamente. El extracto crudo de A1 (25,03 g) fue sometido a separación cromatográfica por Cromatografía de Columna en gel de sílice (M/A:10/100) iniciando la elusión con tolueno y gradiente de polaridad creciente con MEK, hasta 100 % de MEK y luego con cantidades crecientes de alcohol metílico; se recolectaron 200 fracciones de 20 mL cada una, cuyo control por CCD permitió reunir las así: I, 1-7(35 mg.); II 8 (192 mg); III 9-11 (581 mg) IV 12-20 (327 mg), V 21-28 (54 mg.) VI

29-31 (214 MG); VII 31-36 (365 MG) y así sucesivamente. La fracción VI por CC, produjo dos compuestos: un residuo cristalino blanco VI-1, cuyo FTIR contiene las siguientes señales (KBr, cm⁻¹): 3409, 2965, 2934,1460, 1367 (d, grupo isopropilo) 1107, 1074, 1022 (grupo C-OH de alcoholes) lo que caracteriza como un diterpenol; un residuo amarillo VI-2 cuyo FTIR presenta las siguientes señales (KBr, cm⁻¹): 3304, 3050, 2938, 1681, 1654 (C=O), 1461,1374 (CH₃), 1285, 1068, 745 y 620, lo cual lo caracteriza como derivado fenólico.

4. CONCLUSIONES

Las especies bajo estudio presentaron notable actividad citotóxica y larvicida, lo cual oriento la separación cromatográfica del extracto promisorio, correspondiente a las hojas senescentes de la especie *Croton funckianus*. El análisis por CCD y CC permitió la caracterización de compuestos diterpénicos cuyo estudio estructural inequívoco se continuará por fraccionamiento guiado por bioensayos en la búsqueda de los metabolitos secundarios responsables de la bioactividad observada. A lo mejor de nuestro conocimiento este es el primer reporte de actividad biológica y composición química de las hojas de estas especies.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Isman MB, Gunning PJ, Spollen KM. Tropical timber species as sources of botanical insecticides In: *Phytochemicals for pest control*, Isman, MB Ed, chap 3, 1997, 27-37.
- [2] Sukuma, K, Perich M, Boobar L. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 1991, 72, 210-235.
- [3] Salatino A, Faria Salatino M, Negri G. *J. Braz. Chem. Soc.* 2007,18 (1), 11-33.
- [4] Hiruma-Lima CA, Gracioso JS, Bighetti EJ, Grassi-Kassisse DM, Nunes DS, Souza-Brito ARM. *Phytomedicine*, 2002, 9, 523.
- [5] Rosa MDS, Mendoça RR, Bizzo HR, Rodrigues ID, Soares MA, Souto Padron, T Alviano, CS, Lopes AHC. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003, 47, 1895.
- [6] Aguilar-Guadarrama AB, Rios MY. *J. Nat. Prod.* 2004,67, 914-917.
- [7] Nard, GM, Felippi R, Dalbó S, Siqueira-Junior JM, Arruda DC, Delle Monache F, Timbola AK, Pizzolatti MG, Ckless K, Ribeiro-do-Vale RM. *Phytomedicine* 2003,10, 176-179.

- [8] Hongtan J, Kittakoop P, Ruangrunsi N, Saenboonrueng J, Thebtaranonth Y. *J. Nat. Prod.* 2003, 66, 868-870.
- [9] Rossi D, Bruni R, Bianchi N, Chiarabelli C, Gambari R, Medici A, Lista A, Paganetto G. *Phytomedicine* 2003, 10, 139-143.
- [10] El-Mekkawy S, Meselhy MR, Nakamura N, Hattori M, Kawahata T, Otake T. *Phytochemistry*, 2000, 53, 457-458.
- [11] Fuentes JC, Castro V, Jakupovic J, Murillo R. *Rev. Biol. Trop.* 2004, 52, 269-285.
- [12] Alexander CI, Keith P, Manchard P, Williams LA. *Phytochemistry*, 1991, 30, 1801-1803.
- [13] Suárez AI, Compagnone RS, Salazar-Bookaman MM, Tillet S, Delle Monache F, Di Giulio C, Bruges G. *J. Ethnopharmacol.* 2003, 88, 11-21.
- [14] Suárez AI, Vásquez LJ, Manzano MA, Compagnone RS. *Flavour Fragr. J.* 2005, 20, 611-613.
- [15] Guerrero MF, Puebla P, Carrón R, Martín ML, Román LS. *J. Pharm. Pharmacol.* 2002, 54, 1373-1378.
- [16] Meyer B, Ferrigni N, Putnam J, Jacobsen L, Nichols D, McLaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 1982, 45, 31-34.
- [17] McLaughlin JL, Rogers LL, Anderson JE. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Inf. J.* 1998 32, 513-524.