

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE DITERPENOS Y FLAVONOIDES EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL CRECIMIENTO DEL *Gnaphalium elegans* H.B.K.

EVALUATION OF THE PRODUCTION OF DITERPENES AND FLAVONOIDS IN THE DIFFERENT STAGES OF GROWTH FROM THE *Gnaphalium elegans* H.B.K.

Jeanet Rodríguez Mayusa¹ y Rubén Dario Torrenegra²

¹Docente Investigador. M.Sc. Biología. Facultad de Ciencia y Tecnología. U.D.C.A. Calle 222 No. 55-37, Bogotá D.C. jero-driguez@udca.edu.co ²Docente Investigador. Facultad de Ciencia y Tecnología. U.D.C.A.-Calle 222 No. 55-37, Bogotá D.C. rtorrenegra@udca.edu.co

RESUMEN

En este trabajo se analizó la producción del flavonoide 5,7-dihidroxi-3,7,8-trimetoxi flavona y del diterpeno ácido Kaur 9 (11) – 16- eno – 19 oico en hojas y flores durante las diferentes etapas de crecimiento de la especie *Gnaphalium elegans*, por medio de cromatografía de capa delgada de alta resolución (HPTLC).

Palabras clave: *Gnaphalium elegans*; flavonoides; diterpenos

SUMMARY

In this work was evaluate the production in leaves and flowers of the flavonoid 5,7-dihydroxy-3,7, 8-trimethoxy flavone and the diterpene Kaur 9 (11) - 16 eno - 19 oic acid during the different stages of growth of *Gnaphalium elegans*, by means of high-resolution thin-layer chromatography (HPTLC).

Key words: *Gnaphalium elegans*; flavonoids; diterpenes

INTRODUCCIÓN

El *Gnaphalium* es un género de plantas anuales pertenecientes a la familia Asteraceae; han sido usadas en la medicina tradicional para el tratamiento de muchas enfermedades respiratorias como la gripe, asma, tos, bronquitis y afecciones bronquiales (Aguilar, 1994). También especies de *Gnaphalium* han sido usadas como agentes antiinflamatorios y antimicrobianos (Villagomez, 2001) (Wang, 2005). En general las especies de *Gnaphalium* no se consideran tóxicas pero se sabe que a altas dosis puede originar somnolencia y depresión del estado de alerta (Kay, 1994), (Fa-

jardo, 2004). Los compuestos responsables de las propiedades medicinales de las planta del género *Gnaphalium* corresponden a flavonoides y diterpenos (Campos-Bedolla, 2005).. Algunos ejemplos de estos componentes químicos son: 4,2',4'-trihidroxi-6'-metoxichalcona-4'-glucósido, 5,7-dihidroxi-3,6,8-trimetoxiflavona, 13-epicicloesclareol, ácido-16-kauren-19-oico, ácido 11 β -acetoxi-16-kauren-19-oico, 13-epi-esclareol, sitosterol, estigmasterol, 5,8-dihidroxi-3,6,7-trimetoxiflavona, 5,8-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona, gnaphaliin y calycopterina. (Meragelman TL .2003) (Gue-reiro E.1982). La producción de metabolitos secundarios en las plantas varía en dependencia de muchos factores, siendo uno de los principales el tiempo de crecimiento. Este trabajo se centra en determinar en qué etapa de crecimiento de *Gnaphalium elegans* H.B.K. se producen la mayor cantidad de 5,7-dihidroxi-3,7,8-trimetoxi flavona (**p1**) y de ácido Kaur 9 (11) – 16 eno – 19 oico (**p2**), los dos metabolitos principales de esta especie (Torrenegra R. 1980), para en futuros proyectos domesticar la planta y aprovechar sus propiedades fitoterapéuticas

MATERIALES Y MÉTODOS

El *Gnaphalim elegans*, se recolectó en los alrededores de la Laguna de Guatavita en Guasca (Cundinamarca) a una altura aproximada 2584 m.s.n.m durante los meses de junio y agosto del 2011.El material encontrado (en estado de floración) fue marcado como: **Ge-1, Ge-2 y Ge-3**. (Figura 1); y en los meses de febrero y abril del 2012 en el Alto del vino (Cundinamarca) a 2.800 m.s.n.m. De este último lugar se recolectó material de ocho especímenes en diferentes estados de crecimiento (ninguna en estado de floración) que se marcaron como **Ge-4, Ge-5, Ge-6, Ge-7, Ge-8, Ge-9, Ge-10 y Ge-11** (Figura 2); Un ejemplar de la planta colectada



Figura 1. Muestras del *Gnaphalium* Ge-1, Ge-2 y Ge-3



Figura 2. *Gnaphalium elegans* en diferentes etapas de crecimiento

fue identificado en El Herbario Nacional de Colombia con el número (Col 555652),

RESULTADOS Y DISCUSION

El material vegetal de la primera recolección (Ge-1 y Ge-2) se llevó al laboratorio en estado de floración. Se pesaron 7 gramos de las hojas de cada muestra, para someterlas a extracción utilizando solvente de baja polaridad (cloroformo) y de mediana polaridad (acetona). A la mitad del material se le hizo una extracción por maceración con 100mL cloro-

formo y la otra mitad del material con 100 mL de acetona. Después de ocho días de maceración se separó el extracto del material vegetal y se obtuvieron cuatro extractos. (Dos en cloroformo (Ge-1clo y Ge-2clo) y dos en acetona (Ge-1actn y Ge-2actn). Estos extractos fueron sometidos a cromatografías en capa delgada de silica gel, para saber en cuál de las fases móviles separan mejor el flavonoide p1 y el diterpeno p2, se revelaron con yodo o cloruro de cobalto. Las fases móviles ensayadas fueron cloroformo y éter de petróleo-acetato de etilo. Se encontró que el mejor eluyente fue éter de

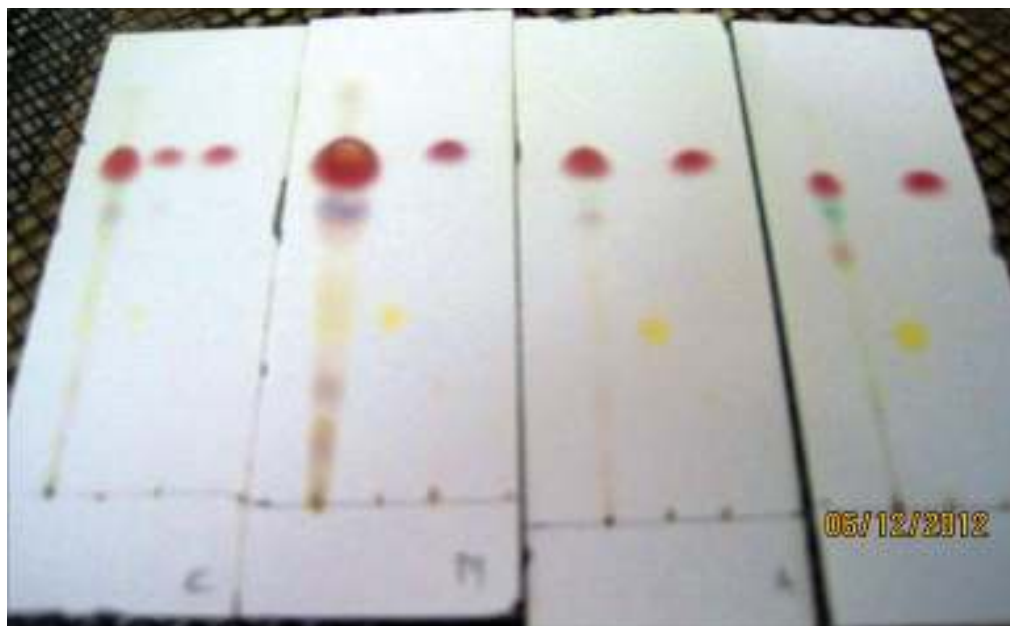


Figura 3. Cromatografías de los extractos **Ge-1clo**, **Ge-2clo**, **Ge-1actn** en EdP-AcOEt 7:3

petróleo-acetato de etilo (EdP-AcOEt) en una relación 7:3., estos dos metabolitos estaban presentes en los extractos **Ge-1clo**, **Ge-2clo**, **Ge-1actn** y **Ge-2actn**. (Figura 3) Se hizo cromatografía del patrón **p1** (5,7-dihidroxi-3,7,8-tri-

metoxi flavona) y el patrón **p2** (ácido Kaur 9 (11)-16 eno-19 oico): se sembraron 0.5, 1.0 y 1.5 micro litros de cada uno en el equipo de HPTLC, se corrió con éter de petróleo-acetato de etilo (EdP-AcOEt) en una relación 7:3. para observar



Figura 4 Cromatografía de HPTLC de los patrones **p1** y **p2**

en que concentración se podía trabajar cada uno de los metabolitos y poderlos cuantificar (Figura 4)

De las ocho muestras recogidas en el Alto del Vino (Ge-4, Ge-5, Ge-6, Ge-7, Ge-8, Ge-9, Ge-10 y Ge-11) se separa-

ron las hojas de cada uno de los especímenes (Figura 5), se pesaron y fueron sometidas a extracción con cloroformo

durante ocho días, después se separó el extracto por decantación y filtración. Se obtuvieron así los ocho extractos



Figura 5. Hojas del *Gnaphalium elegans* en las diferentes etapas de crecimiento

Tabla 1. Pesos de la extracción con CHCl_3 de las muestras Ge-4 a Ge-11

Muestra	P. muestra Vegetal(g)	P. fiasco + extracto(g)	P. frasco Vacío (g)	Peso extracto (g)
Ge-4	0,1785	7,6339	7,6299	0,0040
Ge-5	0,7760	7,6440	7,6315	0,0125
Ge-6	0,9724	7,5555	7,5451	0,0104
Ge-7	0,8480	7,8053	7,7979	0,0074
Ge-8	1,4002	7,6554	7,6429	0,0125
Ge-9	1,1007	7,5981	7,5808	0,0173
Ge-10	0,8996	7,6554	7,6458	0,0096
Ge-11	1,9049	7,5952	7,5751	0,0201

clorofórmicos que fueron pesados (Tabla 1) (**Ge-4Clo**, **Ge-5Clo**, **Ge-6Clo**, **Ge-7Clo**, **Ge-8Clo**, **Ge-9Clo**, **Ge-10Clo** y **Ge-11Clo**).

Con los ocho extractos clorofórmicos (**Ge-4Clo**, **Ge-5Clo**, **Ge-6Clo**, **Ge-7Clo**, **Ge-8Clo**, **Ge-9Clo**, **Ge-10Clo** y **Ge-11Clo**), se prepararon soluciones de 10 mL en cloroformo. De los patrones se pesaron 7 mg del **p1** y 9 mg del **p2** para preparar dos soluciones de 10 mL respectivamente, los anteriores extractos se sometieron a cromatografías de HPTLC sembrando 2.5 micro litros de los extractos clorofórmicos de hojas del *Gnaphalium elegans* y de los patrones **p1** y **p2**, eluyendo con éter de petróleo-acetato de etilo 7:3, y revelando con cloruro de cobalto. En ninguno de los extractos se observó presencia del flavonoide pero sí del diterpeno.

Se recolectó nuevamente un ejemplar en floración para verificar la existencia de metabolitos reportados por la literatura para esta especie. Se pesaron 12.88 gramos de hojas del *Gnaphalium elegans*, se realizó inicialmente una extracción con 50 mL de cloroformo, se evaporó y se agregó metanol y se filtró con lana de vidrio, posteriormente se pasó por un

embudo con carbón activado para retirar la clorofila y obtener un extracto más puro. Este extracto se sometió a cromatografía en el sistema descrito anteriormente y se encontró que el flavonoide (5,7-dihidroxi-3,7,8-trimetoxi flavona) y el diterpeno (ácido Kaur 9 (11) – 16 eno – 19 oico) estaban presentes. (figura 6)

El comportamiento de crecimiento de *Gnaphalium elegans* H.B.K es anual y se vio afectado no solo por su estructura biológica, sino por las interacciones con los factores climáticos, edáficos, bióticos y ciclo metabólicos que incidieron en la producción de los metabolitos secundarios presentes en esta especie.

Se observó que durante la época de floración del *Gnaphalium elegans* H.B.K, están presentes el flavonoide (5,7-dihidroxi-3,6,8-trimetoxi-flavona) y el diterpeno (ácido Kaur 9 (11) – 16 eno – 19 oico). En los otros estados de crecimiento se observó que el flavonoide (5,7-dihidroxi-3,6,8-trimetoxi-flavona) no estaba presente pero sí se encontraba el diterpe-

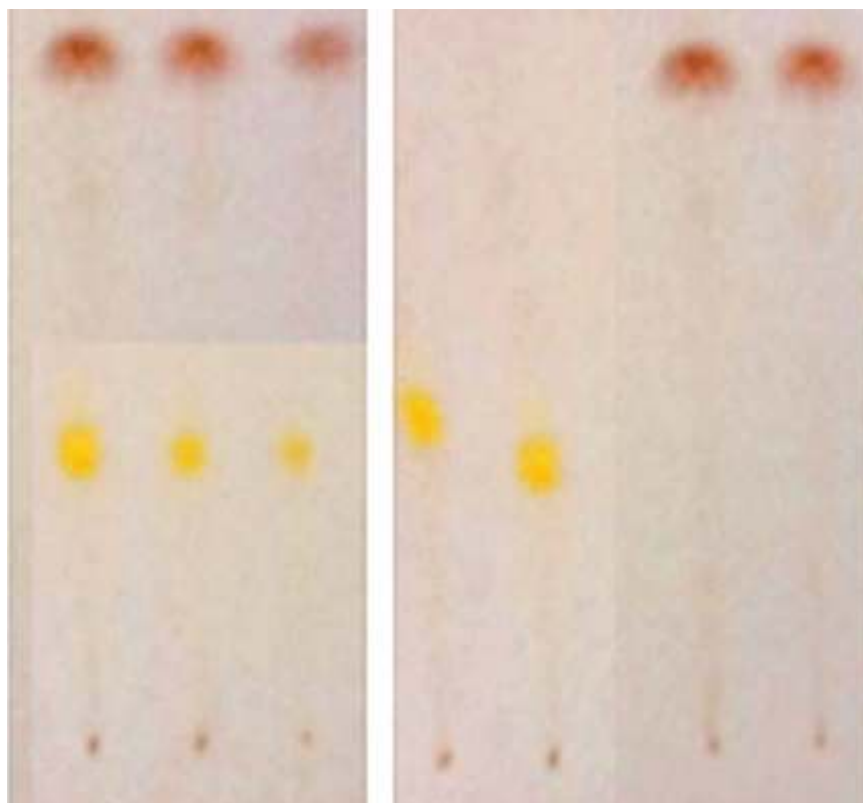


Figura 6. Cromatografías del extracto del *Gnaphalium elegans* (en floración) y de los patrones **p1** y **p2**

no (ácido Kaur 9 (11)–16 eno–19 oico).que no fue posible cuantificar por HPTLC dada su baja concentración.

BIBLIOGRAFIA

1. AGUILAR A, CAMACHO P, CHINO, S, JACKEZ P, LÓPEZ, 1994. ME. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica. México DF: Instituto Mexicano del Seguro Social.
2. CAMPOS-BEDOLLA P, MONTAÑO LM, FLORES-SOTO E, AGUILAR A, Puebla AM, LOZOYA X, et al. 2005.Effect of *Gnaphalium conoideum* HBK on guinea pig airway smooth muscle: role of L-type Ca²⁺ channels. J Ethnopharmacol.; 97(2) p.p. 267-72.
3. GUERREIRO E, KAVKA J, GIORDANO O. 1982. 5,8-Dihydroxy-3,6,7-trimethoxyflavone from *Gnaphalium gaudichaudianum*. Phytochemistry. 21(10): 2601-2602.
4. KAY, M. Poisoning by gordolobo. HerbalGram. 1994 ; 32: 42.
5. FAJARDO F. Intoxicación por gordolobo (*Gnaphalium sp.*) en dos recién nacidos gemelos. Bol Clin Hosp Infant Edo Son. 2004;21(1).pp. 34-38.
6. MERAGELMAN TL, SILVA GL, MONGELLI E, Gil RR. 2003.Ent-pimarane type diterpenes from *Gnaphalium gaudichaudianum*. Phytochemistry. 62(4): 569-72.
7. TORRENEGRA, R., ESCARRIA, S., RAFFELSBEGER B.,ACHENBACH,H. 1980.“5,7-dihidroxy-3,6,8-trimetoxyflavone a new flavone from the flowers of *Gnaphalium elegans*”, Phytochemistry, 19, 2795-2796.
8. VILLAGOMEZ-IBARRA JR, SANCHEZ M, ESPEJO O, ZUNIGA-ESTRADA, TORRES-VALENCIA JM, JOSEPH-NATHAN P. 2001.Antimicrobial activity of three Mexican *Gnaphalium species*. Fitoterapia. 72(6).pp. 692-94.
9. WANG YC, HUANG TL. 2005. Screening of anti-*Helicobacter pylori* herbs deriving from Taiwanese folk medicinal plants. FEMS Immunol.Med Microbiol. 43(2). pp.295-300