



Estudio de la actividad antimicrobiana de un alcaloide oxindólico y actividad antioxidante de diferentes extractos de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC.

C. Cayunao
S. Erazo
N. Backhouse
L.I. Bachiller
M. Zaldívar
R. García

La "uña de gato" o *Uncaria tomentosa* Willd. DC, Rubiaceae, es una liana originaria del Perú que se utiliza en Medicina tradicional como antiinflamatorio, en la diabetes, diversas tumoraciones, cáncer, procesos virales, irregularidades del ciclo menstrual, convalecencia y "debilidad general". De esta planta se han aislado diferentes metabolitos secundarios tales como alcaloides penta y tetracíclicos, heterósidos triterpénicos derivados del ácido quinóico, fitosteroles y compuestos polifenólicos⁽¹⁾.

En este trabajo se describe la actividad antimicrobiana de la isopteropodina, alcaloide oxindólico mayoritario de *U. tomentosa*, y la actividad antioxidante presente en extractos seriados de la planta.

Para la investigación se empleó la corteza triturada de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC., que fue macerada en disolventes de polaridad creciente, para obtener así los extractos hexánico (EH), diclorometánico (EDCM) y metanólico (EM). De estos extractos se obtuvieron las fracciones alcaloídicas mediante extracción en cloroformo a pH ácido, neutro y básico. A partir de los extractos clorofórmicos ácido y neutro se purificó el alcaloide mediante cromatografía en columna de sílica gel 60 (Merck) eluyendo con diclorometano:acetato de etilo (95:5 a 85:15) y cromatografía en capa fina preparativa de sílica gel 60 eluyendo con diclorometano:acetato de etilo (2:1). El compuesto aislado fue identificado como el alcaloide oxindólico

pentacíclico isopteropodina por constantes físico-químicas, técnicas espectroscópicas (espectrometría de masas, ¹H-RMN, ¹³C-RMN) y HPLC.

La actividad antimicrobiana del alcaloide aislado fue determinada^(2, 3), empleando cromatoplasmas de gel de sílice 60 (Merck) y 7 cepas microbianas descritas en farmacopea (USP XXII) para la valoración de antibióticos (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus flavus*, *Escherichia coli* y *Salmonella aviatum*). Para este bioensayo se utilizaron cultivos de los microorganismos en fase logarítmica de crecimiento en un medio de cultivo líquido (TSB). Cada cultivo microbiano se vertió sobre las cromatoplasmas con el alcaloide sembrado a diferentes concentraciones, se homogenizó manualmente e incubó durante 24 horas en estufa a 37°C.

Las placas cubiertas con el cultivo microbiano se revelaron con una sal de tetrazolium (MTT) y se dejaron incubando por 4 horas más. Con el reactivo revelador se tornaron de una intensa coloración violeta exceptuando la zona en donde se produjo la inhibición del crecimiento bacteriano que queda de color marfil.

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria se ensayaron las cepas microbianas con las que dio positivo en el bioensayo anterior, empleando soluciones del alcaloide de 100 hasta

300 µg/mL, 2 mL de medio de cultivo líquido (TSB) y 125 µL de cultivos de los microorganismos en fase logarítmica de crecimiento.

Al medio de cultivo líquido se le agregaron concentraciones crecientes del alcaloide aislado con intervalos de 10 µg/mL y a este medio se inocularon 125 µL de cada cultivo de microorganismo. Se incubó por 24 horas a 37°C y por comparación visual frente a un blanco se determina la total transparencia del tubo (ausencia de turbidez). Como antimicrobiano de referencia se utilizó ampicilina.

Para la determinación de la actividad antioxidante de los extractos se empleó el ensayo de decoloración del radical DPPH[•] (4, 5). Se emplearon disoluciones de los extractos EH, EDCM y EM a concentraciones de 200, 100, 50, 10 y 1 mg/mL, y una disolución del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) de concentración 0,02 µg/mL.

El radical DPPH[•] es de color violeta intenso, pero al ser capturado por compuestos presentes en los extractos, se estabiliza perdiendo su color característico. Esta capacidad atrapadora de los extractos es posible cuantificarla midiendo las absorbancias a λ = 517 nm 5 minutos después de la adición del radical DPPH.

$$\% \text{ decoloración} = 100 - [(AM / AC) \times 100]$$

AM: absorbancia de la muestra en estudio.

AC: absorbancia del control

Un valor igual a 100 corresponde a la máxima capacidad atrapadora y un valor cercano a 0 indica una reducida capacidad.

Como captador de radical libre de referencia se utilizó quercetina.

Resultados

Actividad antimicrobiana de la isopteropodina

La isopteropodina mostró actividad antimicrobiana frente a *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*.

Para las dos cepas bacterianas ensayadas la determinación de la CMI dió valores de 150 y 200 µg/mL respectivamente, frente a un valor de CMI de 5 µg/mL para la ampicilina empleada como referencia.

Actividad antioxidante de los extractos

La actividad capturadora de radicales libres es mayor en los extractos EM y EH que para el EDCM (FIGURA 3).

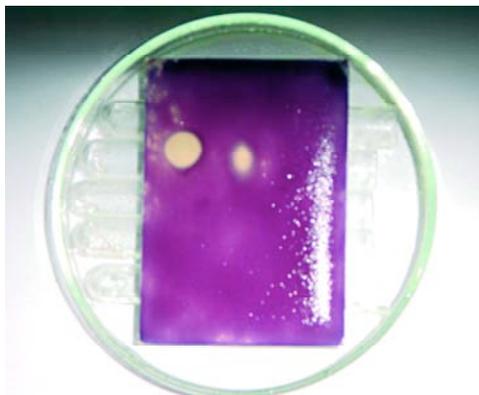


FIGURA 1. Bioautografía alcaloide aislado frente a *B. subtilis*.

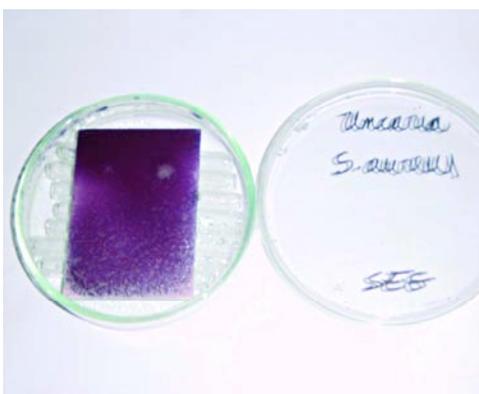


FIGURA 2. Bioautografía alcaloide aislado frente a *S. aureus*.

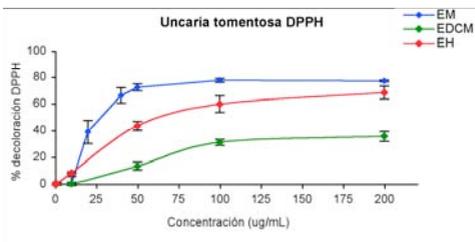


FIGURA 3. Porcentaje de decoloración del radical DPPH[•] EN EH, EDCM y EM.



Conclusiones

Los extractos hexánico, diclorometánico y metanólico de la corteza de *U. Tomentosa* presentan actividad antioxidante *in vitro* (capturadora de radicales libres) mediante la técnica de decoloración del radical DPPH[•]. El extracto metanólico es el más activo.

El alcaloide isopteropodina tiene una ligera actividad antimicrobiana *in vitro* frente a: *S. aureus* y *B. Subtilis*, siendo las concentraciones mínimas inhibitorias de 150 µg/mL para *S. aureus* y de 200 µg/mL para *B. subtilis*.

Autores

Cayunao C., Erazo S., Backhouse N., Zaldivar M. y García R.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Universidad de Chile
Santiago, Chile.

Bachiller L.

Sociedad Asturiana de Fitoterapia
Oviedo, España

Referencias bibliográficas

1. Lock O, Doroteo VH, Alvarez CM. Analisis comparativo por CCD y HPLC de alcaloides presentes en productos comerciales a base de Uña de gato. Primera reunion Internacional del genero Uncaria "Uña de gato". Iquitos. Perú., 2001.
2. Rahalinson L, Hamburger M, Hostettman K, Monod M, Frenk E.). A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. *Phytochemical Análisis* 1991; 2, 199-203.
3. Erazo S, González V, Zaldivar M, Negrete R. Antimicrobial activity of *Psoralea glandulosa* L. *Int J of Pharm* 1997; 35, 1-3.
4. Cos P, et al. Structure activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J Nat Prod* 1998; 61, 71-76.
5. Sanchez-Moreno C, et al. A procedure to measure the anti-radical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric* 1998; 76, 270-276.