

ESTUDIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR Y BIOACTIVIDAD DE LA PLANTA *Melochia villosa* PROVENIENTE DEL ESTADO AMAZONAS, VENEZUELA

PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL STUDY AND BIOACTIVITY OF THE PLANT *Melochia villosa* FROM AMAZONAS STATE, VENEZUELA

HAYDELBA TRINIDAD D'ARMAS¹, FÁTIMA RODRÍGUEZ², JOSÉ SALAZAR¹

Universidad de Oriente, ¹ Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Química, Laboratorio de Productos Naturales, Cumana, Venezuela, ² Núcleo de Monagas, Unidad de Estudios Básicos, Departamento de Ciencias, Sección de Química, Maturín, Venezuela
E-mail: htrinidad86@hotmail.com

RESUMEN

Se realizó un análisis fitoquímico preliminar para los extractos crudos de tallo, hojas y flores de *Melochia villosa* (Plantae: Sterculiaceae), recolectada en los alrededores de Puerto Ayacucho, estado Amazonas, Venezuela, así como también se aplicaron pruebas de actividad antimicrobiana y de letalidad contra *Artemia salina*. Las pruebas fitoquímicas evidenciaron la presencia de esteroides insaturados y triterpenos pentacíclicos en todos los extractos, con excepción del extracto alcohólico de las hojas (EALH); flavonoides solo en los extractos alcohólicos y fenilpropanoides en los extractos alcohólicos de las hojas y tallo (EALT). El extracto etéreo del tallo (EET) mostró actividad antibacteriana leve (halo de 7 mm) contra *Staphylococcus aureus*, mientras que el extracto etéreo de las flores (EEF) fue activo contra la misma cepa (halo de 9 mm), además de mostrar actividad leve contra *Micrococcus luteus* (halo de 8 mm) y moderada contra *Enterobacter cloacae* y *Bacillus subtilis* (halo de 10 mm). El EALH fue activo contra *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. En las pruebas de actividad antifúngica, solo el EALT mostró actividad inhibiendo levemente la cepa de *Fusarium poae*. El EET exhibió una excelente actividad letal con una concentración letal media (CL₅₀) de 2,06 µg/mL, seguido del EEF y el EALT con una CL₅₀ de 10,00 µg/mL para ambos; el EALH tuvo una CL₅₀ de 74,68 µg/mL y el extracto etéreo de las hojas con una CL₅₀ de 169,10 µg/mL. Estos resultados permiten inferir, que esta planta es una fuente promisoría de metabolitos secundarios bioactivos.

PALABRAS CLAVE: Sterculiaceae, actividad antimicrobiana, letalidad, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

A preliminary phytochemical analysis was conducted of crude extracts of stem, leaves and flowers of *Melochia villosa* (Plantae: Sterculiaceae), collected in Puerto Ayacucho, Amazonas state, Venezuela, and antimicrobial activity test and lethality test against *Artemia salina* were applied. Phytochemical tests showed the presence of unsaturated sterols and pentacyclic triterpenes in all extracts, with the exception of the alcoholic extract of the leaves (EALH), flavonoids only in the alcoholic extracts, and phenylpropanoids in the alcoholic extracts of the leaves and stem (EALT). The stem ether extract (EET) showed mild antibacterial activity (halo of 7 mm) against *Staphylococcus aureus*, whereas the ether extract of flowers (EEF) was active against the same strain (halo of 9 mm) besides of showing slight activity against *Micrococcus luteus* (halo of 8 mm), and moderate against *Enterobacter cloacae* and *Bacillus subtilis* (halo of 10 mm). The EALH was active against *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Only EALT showed slightly antifungal activity against *Fusarium poae* strain. The EET exhibited excellent lethal activity showing a mean lethal concentration (LC₅₀) of 2.06 µg/mL, followed by the EEF and EALT with a LC₅₀ of 10.00 µg/mL for both; the EALH had a LC₅₀ of 74.68 µg/mL and the leaves ether extract a LC₅₀ of 169.10 µg/mL. These results allows to infer that this plant is a promising source of bioactive secondary metabolites.

KEY WORDS: Sterculiaceae, antimicrobial activity, lethality, secondary metabolites.

INTRODUCCIÓN

Los productos naturales originados de las plantas pueden ser considerados como una fuente incalculable de nuevos compuestos químicos de uso potencial en la medicina (Compagnone *et al.* 1999).

Se ha reportado que los extractos de muchas plantas pertenecientes a la familia Sterculiaceae son usadas en la medicina tradicional. La familia comprende aproximadamente 68 géneros y 1.000 especies (Reid *et*

al. 2005). Entre los géneros se encuentran: *Waltheria*, *Melochia*, *Sterculia*, *Helicteres* y *Theobroma* entre otros (Rondón y Cumana 2006).

Las plantas de esta familia son reconocidas por ser ricas en alcaloides y han sido usadas en la medicina tradicional para aliviar la inflamación de la cavidad orofaríngea, como agentes antitumorales, y para el tratamiento de la distensión abdominal, disentería y mordedura de serpientes (Dias *et al.* 2007). *Melochia* es

uno de los géneros de esta familia, que está extendido en todo el trópico, entre éstos, *Melochia corchorifolia* y *Melochia tomentosa*, han sido las más investigadas, reportándose algunos flavonoides y alcaloides ciclopeptídicos para ambas especies (Tschesche y Reutel 1968, Kapadia *et al.* 1977, 1980, Bhakuni *et al.* 1986). Además, en otra investigación el extracto de la raíz de *M. tomentosa*, resultó ser cancerígeno, donde fueron reportados un alcaloide quinolinolico y una cumarina (Shukla *et al.* 1976).

En otro estudio reciente realizado a las hojas de *M. tomentosa*, proveniente de la localidad de Tocuchare, estado Sucre, Venezuela, se detectó la posible presencia de flavonoides y esteroides insaturados en los extractos metanólicos de las hojas y el tallo, así como también se detectaron saponinas, polifenoles y taninos en el extracto del tallo. El extracto de las hojas presentó actividad letal moderada y resultó inactivo frente a hongos y bacterias, mientras que el extracto del tallo presentó actividad contra varias cepas de bacterias y hongos, y una buena actividad letal, caracterizándose por primera vez un derivado amino y otro derivado acetilado de un esteroide (Espinoza 2010).

Otra de las especies que ha sido estudiada fitoquímicamente, es la *Melochia chamaedrys*, la cual es usada en la medicina tradicional para el tratamiento de varias enfermedades como el cáncer y como agente anti-hipertensivo, donde se reportó el aislamiento de chamaedrina, un alcaloide ciclopeptídico de la raíz de esta especie (Dias *et al.* 2007). *Melochia villosa* es una hierba que se conoce comúnmente como “malva” o “hierba de San Juan”, y la decocción de su raíz se usa como desinfectante, para lavar la boca y recuperar el apetito luego de fiebres y resfriados (Rondón 2009). Dicha planta no ha sido estudiada químicamente, por tal motivo, se decidió realizar el estudio fitoquímico de la misma y evaluar su posible actividad biológica, aportándose así información valiosa al campo de los productos naturales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de la muestra

Los ejemplares de la planta *Melochia villosa* se recolectaron en los alrededores de Puerto Ayacucho, estado Amazonas a lo largo de la carretera, a una latitud de 5°40'0,01" N, longitud 67°30'28,71" O. Seguidamente, fueron trasladados en bolsas desde el sitio de muestreo hasta el Departamento de Biología del Núcleo de Sucre

de la Universidad de Oriente en la ciudad de Cumaná, estado Sucre, en donde fueron identificados para luego ser procesados.

Obtención de los extractos

Se dejó secar la planta a temperatura ambiente, se separaron las partes de la planta (hojas, tallo, flores y frutos), las cuales fueron molidas por separado en un molino eléctrico y extraído en éter dietílico para obtener los componentes menos polares. El filtrado fue concentrado a presión reducida (aprox. 11 mbar) en un rotaevaporador marca Hidolph, obteniéndose el extracto crudo en éter. El residuo se extrajo sucesivamente con etanol y metanol para extraer los componentes más polares, los filtrados se concentraron a presión reducida en un rotaevaporador y luego, se juntaron los extractos etanólicos y metanólicos obteniéndose de esta manera el extracto crudo alcohólico. Se determinó la masa de cada uno de los órganos de la planta *M. villosa*, y se realizó el proceso de extracción con éter dietílico y metanol.

Pruebas químicas

La presencia de las diferentes familias de metabolitos secundarios (alcaloides, esteroides, saponinas, triterpenos, polifenoles, entre otros) encontrados en los extractos obtenidos, se determinó utilizando las metodologías de análisis fitoquímico reportadas (Marcano y Hasegawa 2002, Murrillo y Méndez 2007), las cuales se basan en la caracterización química de los diferentes grupos funcionales que integran las estructuras de los metabolitos.

Pruebas biológicas

Actividad letal con *Artemia salina*

Para evaluar el nivel de toxicidad de los extractos crudos de la planta, se colocaron los quistes del crustáceo con agua de mar bifiltrada en un envase, para obtener los nauplios de *Artemia*. Se preparó 1 mL de una solución madre de 10.000 µg/mL del extracto, preparada disolviendo el extracto en la mínima cantidad posible de dimetilsulfóxido (DMSO) y completando hasta 1 mL con agua de mar bifiltrada. A partir de la solución madre, se prepararon soluciones diluidas de 1.000; 100; 10; 1; 0,1 y 0,01 µg/mL mediante diluciones sucesivas. A cada disolución se le agregaron 10 nauplios de *A. salina* eclosionados con anterioridad, y por cada concentración se realizaron tres réplicas del bioensayo. Se realizó un blanco con la misma mezcla de DMSO y agua de mar

utilizada en la preparación de la solución madre. Se determinó la mortalidad de los nauplios transcurridas las 48 horas de la realización del bioensayo, y se anotó el número de organismos muertos en cada una de las concentraciones (Meyer *et al.* 1982). Se determinó la concentración letal media (CL₅₀) mediante un programa estadístico (métodos Binomial, Logit y Probit) propuestos por Stephan (1977).

Actividad antibacteriana

Este bioensayo se realizó por medio de la técnica de difusión en agar, el cual consistió en impregnar discos estériles de papel de filtro Whatman N° 3 de 5 mm de diámetro con 10 µL de una solución del extracto (40 mg/mL). Dichos discos fueron colocados en una placa servida con agar Müller-Hilton, previamente sembrada con una suspensión bacteriana de concentración conocida (1 x 10⁸ bacterias/mL) e inoculadas con una suspensión bacteriana estandarizada por comparación con un patrón McFarland 0,5. Posteriormente, las placas fueron preincubadas a 5°C por 12 horas, para luego ser incubadas a 37°C por 24 horas. La acción antibacteriana se midió tomando el diámetro (mm) del halo de inhibición alrededor del disco (Bauer *et al.* 1966). Se utilizaron cepas de bacterias certificadas existentes en el Laboratorio de Productos Naturales (412) del Departamento de Química de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre (Tabla 1).

Tabla 1. Cepas bacterianas utilizadas para el ensayo de actividad antibacteriana.

Bacteria	Origen	Coloración Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	-
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	ATCC 23055	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	DAI – 269JI	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	-
<i>Bacillus subtilis</i>	ICTA - 07	+
<i>Micrococcus luteus</i>	Bioanálisis 33810	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	IBE (DOC-19)	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	WHO (14)	+

Actividad antifúngica

Esta actividad se evaluó utilizando cepas de hongos patógenos y fitopatógenos proporcionados por los Laboratorios de Fitopatología y Microbiología del Departamento de Biología de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre (Tabla 2). El método consistió en incubar las cepas de hongos seleccionadas en tubos por una semana a temperatura ambiente. Se agregó

aproximadamente 10 mL de agua destilada estéril a cada tubo para remover las esporas, luego se filtró sobre gasa estéril, para obtener la solución esporangial de cada cepa incubada. La solución obtenida se sembró sobre cápsulas de Petri, previamente preparadas con agar Papa Dextrosa (PDA), usando hisopos estériles. Seguidamente, se impregnaron los discos de papel de filtro Whatman N° 3 de 5 mm de diámetro con aproximadamente 10 µL de la muestra y se incubaron por 48 horas a temperatura ambiente. Dicha actividad se indicó mediante la aparición de halos de inhibición alrededor del disco, midiéndose tomando en cuenta su diámetro (mm) (Madubunyi 1995).

Tabla 2. Cepas de hongos utilizadas para realizar el bioensayo de actividad antifúngica.

Hongo	Clasificación
<i>Mucor racemus</i>	fitopatógeno
<i>Fusarium maniliforme</i>	fitopatógeno
<i>Trichoderma viridis</i>	fitopatógeno
<i>Fusarium poae</i>	patógeno

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según la revisión bibliográfica, *Melochia villosa* es una planta que no ha sido sometida anteriormente a estudios de tipo fitoquímico ni biológico, por lo que a continuación se presentan los resultados obtenidos en el análisis del extracto alcohólico de las hojas, así como también en los extractos alcohólico y etéreo del tallo.

Rendimiento porcentual de los extractos

Una vez obtenidos los extractos secos, se procedió a determinar las masas de los mismos y su respectivo rendimiento, obteniéndose así 1,0486 g del EEH, 0,3816 g del EET y 0,4638 g de EEF, con un rendimiento de 0,79%, 0,24% y 1,07% respectivamente. De igual manera, se logró obtener 3,5551 g del EALH, 1,8703 g del EALT y 1,5831 g del EALF, con un rendimiento de 2,69%, 1,16% y 3,65%.

Estos resultados muestran claramente, que la mayor parte de los compuestos presentes en la planta son de naturaleza polar, puesto que se obtuvo un mayor rendimiento en la extracción alcohólica; sin embargo, también hay presencia de compuestos poco polares con una menor abundancia en dicha especie. Según la literatura, se observó el mismo comportamiento en los extractos obtenidos de *H. baruensis* Jacq, *H. guazumofolia* Kunth, *M. tomentosa* y *M. chamaedrys*;

sin embargo, cabe destacar que para *M. tomentosa* solo se realizaron extracciones metanólicas (Costa 2005, Tarache 2007, Espinoza 2010, Vázquez 2010).

Análisis fitoquímico preliminar

Al realizar las pruebas químicas de identificación de algunos núcleos secundarios, se logró mostrar la presencia

de esteroides insaturados y triterpenos pentacíclicos en todos los extractos, a excepción del extracto alcohólico de la hoja. También, se manifestó la presencia de fenilpropanoides en los extractos alcohólicos de las hojas y el tallo, al igual que fue detectado la presencia de flavonoides en todos los extractos alcohólicos obtenidos, resultando negativa dicha prueba para los extractos en éter dietílico (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis fitoquímico de los extractos etéreos y alcohólicos de cada una de las partes botánica de la planta *M. villosa*.

Familia de metabolitos	Hojas		Tallo		Flores		%emf
	EEH	EALH	EET	EALT	EEF	EALF	
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	0,00
Saponinas	-	-	-	-	-	-	0,00
Glicósidos cardiotónicos	-	-	-	-	-	-	0,00
Polifenoles	-	-	-	-	-	-	0,00
Taninos	-	-	-	-	-	-	0,00
Metilencetonas	-	-	-	-	-	-	0,00
Esteroides insaturados	+	-	+	+	+	+	83,33
Triterpenos pentacíclicos	+	-	+	+	+	+	83,33
Glicósidos cianogénicos	-	-	-	-	-	-	0,00
Antraquinonas	-	-	-	-	-	-	0,00
Flavonoides	-	+	-	+	-	+	50,00
Cumarinas	-	-	-	-	-	-	0,00
Fenilpropanoides	-	+	-	+	-	-	33,33
%mpe	15,38	15,38	15,38	30,77	15,38	23,08	

(-) Ausencia del metabolito; (+) presencia del metabolito, EEH: extracto etéreo de las hojas, EALH: extracto alcohólico de las hojas, EET: extracto etéreo del tallo, EALT: extracto alcohólico del tallo, EEF: extracto etéreo de las flores, EALF: extracto alcohólico de las flores. %emf: porcentaje de extractos con metabolitos pertenecientes a la misma familia. %mpe: porcentaje de metabolitos presentes por cada extracto.

Los esteroides naturales por tratamiento con ácidos fuertes en condiciones de deshidratación, dan reacciones coloreadas que son útiles para su identificación preliminar (reacción de Lieberman-Burchard), por lo cual al agregar las gotas de dicho reactivo, se observó la aparición de una coloración verde intensa indicadora de la presencia de esteroides en los extractos analizados (Murrillo y Méndez 2007).

Los fenilpropanoides son sustancias aromáticas que tienen funciones oxigenadas (hidroxilos, metoxilos, metilendioxilos) en posiciones *orto* y/o *para*; están muy difundidos en el reino vegetal (Murrillo y Méndez 2007). Su presencia fue evidenciada mediante la aparición de la coloración naranja, característica del reactivo de Arnow

frente a los fenilpropanoides.

La acción farmacológica de los flavonoides es extensa y variada, bien conocida por su actividad contra la fragilidad capilar, su acción antiesclerótica y antiinflamatoria, dilatadora de las coronarias, espasmolítica, antihepatotóxica, colerética, estrógena y diurética. Se destaca su actividad antimicrobiana; además que limitan la acción de los radicales libres (oxidantes), reduciendo el riesgo de cáncer y enfermedades cardíacas, refuerzan los vasos sanguíneos y bloquea la degeneración macular (Murrillo y Méndez 2007).

Al exponer los extractos ante los vapores de hidróxido de amonio y colocarlos bajo luz ultravioleta,

se observó una fluorescencia que indicó la presencia de flavonoides. Cabe destacar, que es posible que los flavonoides detectados en los extractos de *M. villosa*, puedan provenir de la biosíntesis de los fenilpropanoides propios de dicha especie.

De acuerdo al porcentaje de extractos con metabolitos pertenecientes a la misma familia química (% emf), se pudo observar que el grupo de los esteroides insaturados y triterpenos pentacíclicos, fueron los más abundantes dentro del grupo de extractos analizados (83,33%), seguido por los flavonoides (50%) y en último lugar los

fenilpropanoides (33,33%); lo que quiere decir, que son los esteroides y triterpenos un tipo de metabolitos bastante abundante en la planta *M. villosa*. De igual forma, según el porcentaje de metabolitos presentes por cada extracto (% mpe), se observó que el extracto alcohólico del tallo (EALT) fue el que mostró la presencia de la mayor cantidad de núcleos secundarios, seguido del extracto alcohólico de las flores (EALF), presentando el resto de los extractos una menor cantidad de los mismos (Tabla 4). Esto hace al EALT un extracto bastante promisorio para ser estudiado.

Tabla 4. Actividad antibacteriana de los extractos crudos de *M. villosa*.

Bacteria	Hojas		Tallo		Flores	% cam
	EEH	EALH	EET	EALT	EEF	
<i>Escherichia coli</i>	-	+	-	-	-	20,00
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-	-	++	20,00
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	-	+	-	-	-	20,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	0,00
<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	-	-	++	40,00
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	+	20,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+	-	+	60,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	-	-	-	20,00
% mse	0,00	62,50	12,50	0,00	50,00	

(+) Actividad leve con halos de 6-9 mm de diámetro; (++) actividad moderada con halos de 10-13 mm de diámetro; (+++) actividad fuerte con diámetro de halo superior a 13 mm (Monks *et al.* 2002); (-) ausencia de actividad. Se utilizaron discos de 5 mm de diámetro. %eam: porcentaje de los extractos evaluados que resultaron activos contra el mismo organismo. %mse: porcentaje de microorganismos sensibles a un mismo extracto. EET: extracto etéreo del tallo, EALT: extracto alcohólico del tallo, EEF: extracto etéreo de las flores, EALF: extracto alcohólico de las flores.

El hecho de no haberse detectado la presencia de algunas familias de metabolitos, no implica necesariamente la ausencia de los mismos, ya que es posible que éstos se hayan encontrado en concentraciones muy bajas para ser detectados, mediante las pruebas húmedas de determinación de núcleos secundarios.

Este estudio fitoquímico constituye un aporte importante a la quimiotaxonomía de *M. villosa*, ya que no existe en la literatura reportes de este tipo para dicha especie; además, se evidenció la presencia de esteroides insaturados, los cuales constituyen un grupo de metabolitos muy característicos de las plantas de la familia Sterculiaceae, puesto que según los reportes de la literatura, este tipo de metabolitos se encuentra presente en otras especies tales como *H. baruensis* Jacq (Tarache 2007), *H. guazumifolia* Kunth (Vázquez 2010) y *M. tomentosa* (Espinoza 2010). Adicionalmente, la presencia de flavonoides también fue detectada en *M.*

tomentosa y *Waltheria americana* (Osuna *et al.* 2005), evidenciándose la presencia de este segundo grupo de metabolitos en algunas plantas de esta familia. El hecho de detectar en *M. villosa* la presencia de los mismos grupos de metabolitos secundarios reportados en varias plantas de la misma familia Sterculiaceae, es evidencia de la relación quimiotaxonómica de las mismas.

Actividad biológica

Actividad antibacteriana

Al evaluar la actividad antibacteriana de los extractos crudos de *M. villosa*, se detectó la intensidad de la misma, según el criterio de Monks *et al.* (2002), de actividad leve (halos entre 7 y 9 mm) en el extracto alcohólico de las hojas contra cinco de las cepas bacterianas, el extracto etéreo del tallo lo hizo contra una de las cepas (halo de 7 mm), mientras que el extracto etéreo de las flores inhibió

el crecimiento (halos de 8 a 10 mm) contra cuatro de las cepas ensayadas (Tabla 4).

Según el análisis realizado, para la mayoría de los casos el efecto fue bactericida, es decir, no hubo proliferación de la bacteria en la región inhibida; sin embargo, en el extracto etéreo de las flores (EEF) se observó acción bacteriostática, es decir, hubo cierto crecimiento bacteriano dentro del halo de inhibición para las cepas de *M. luteus* (halo de 8 mm) y *S. aureus subsp. aureus* (halo de 9 mm). De igual manera, se observó este comportamiento al ensayar el extracto etéreo del tallo (EET) contra la segunda cepa antes mencionada, y al probar la acción del extracto alcohólico de las hojas contra *E. coli*, por lo que el efecto antibacteriano del extracto se considera menos potente para estos casos.

De acuerdo al porcentaje de extractos activos contra un mismo microorganismo (%eam), *S. aureus* (IBE (DOC-19)) fue el microorganismo sensible a la mayor cantidad de extractos, exhibiendo un 60,00% de inhibición de los mismos, a pesar que en alguno de ellos la acción antibacteriana fue bacteriostática. Esto quiere decir, que la mayor parte de los extractos provenientes de *M. villosa* están compuestos por metabolitos activos contra esta cepa de bacterias. Por su parte, la cepa de *B. subtilis* (ICTA-07) fue inhibida en 40,00% de los extractos ensayados, seguido de las *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *A. calcoaceticus* (ATCC 23055) y *E. coli* (ATCC 25922), con 20,00%, lo cual significa que en comparación con *S. aureus*, estas cepas son más resistentes ante la acción de los metabolitos presentes en *M. villosa*.

Según el porcentaje de microorganismos sensibles a un mismo extracto (%mse), se observó que el extracto alcohólico de las hojas (EALH) presentó mayor actividad con 62,50%, seguido del extracto etéreo de las flores con 50,00% y finalizando con el extracto etéreo del tallo con 12,5%, siendo inactivo el resto de los extractos. Esto significa que el extracto alcohólico de las hojas, posee ciertos metabolitos que le confieren una mayor propiedad antibacteriana, este hecho lo convierte en un extracto bastante promisorio para ser estudiado. Cabe destacar, que para el EALH, la mayor parte de las cepas inhibidas fueron Gram-positivas mientras que para el EEF las cepas inhibidas fueron en su mayoría Gram-negativas, a excepción de *E. cloacae*; por su parte, para el EET la única cepa inhibida fue Gram-positiva. Se puede inferir que *M. villosa* ejerce un mayor efecto antibacteriano ante las cepas Gram-positiva.

Según los reportes de la literatura, los extractos

metanólicos crudos de las hojas de *H. guazumifolia* Kunth (Vázquez 2010), presentaron actividad antibacteriana contra las bacterias *M. luteus*, *E. cloacae*, *A. calcoaceticus* y *B. subtilis*. Por su parte, la fracción etérea de las hojas de *H. baruensis* Jacq (Tarache 2007), presentó actividad bacteriostática leve a la bacteria *Salmonella enteritidis*, y la fracción clorofórmica mostró un efecto bactericida contra la misma, así como también mostró actividad leve contra *Bacillus cereus*. De igual manera, las hojas de *W. americana* (Osuna *et al.* 2005) evidenciaron actividad contra *B. subtilis*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, mientras que el extracto metanólico de la planta en general, fue también activo contra *E. coli*. Para *M. tomentosa* (Espinoza 2010), el extracto metanólico del tallo exhibió una actividad antimicrobiana considerable contra *E. coli*, *M. luteus*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*. En concordancia con este hecho, se dice que *M. villosa*, al igual que otras plantas de la familia Sterculiaceae, presenta propiedades antibacterianas.

Actividad antifúngica

Al ensayar los distintos extractos de *M. villosa* contra cuatro cepas de hongos, solo se observó una actividad muy leve ejercida por el EALT frente a la cepa de *Fusarium poae* (Tabla 5).

Tabla 5. Actividad antifúngica de los extractos crudos de *M. villosa*.

Hongo	Hojas		Tallo		Flores
	EEH	EALH	EET	EALT	EEF
<i>Mucor racemosus</i>	-	-	-	-	-
<i>Fusarium maniliforme</i>	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma viridis</i>	-	-	-	-	-
<i>Fusarium poae</i>	-	-	-	+	-

(+) Actividad leve con halos de 6-9 mm de diámetro; (++) actividad moderada con halos de 10-13 mm de diámetro; (+++) actividad fuerte con diámetro de halo superior a 13 mm (Monks *et al.* 2002); (-) ausencia de actividad. Se utilizaron discos de 5 mm de diámetro. EET: extracto etéreo del tallo, EALT: extracto alcohólico del tallo, EEF: extracto etéreo de las flores, EALF: extracto alcohólico de las flores.

Según la literatura, el extracto metanólico del tallo de *M. tomentosa* (Espinoza 2010), ejerció un efecto inhibitorio contra el crecimiento fúngico de las cepas de *Curvularia lunata*, *Mucor* sp. y *Penicillium* sp. Igualmente, los extractos en éter de petróleo y metanol de las hojas de *H. guazumifolia* Kunth (Vázquez 2010), exhibieron actividad antifúngica contra las dos primeras cepas mencionadas, así como también inhibió el crecimiento de *Aspergillus oryzae*. Los extractos acuoso y metanólico de las hojas, tallo y flores de *W. americana*

ejercieron actividad antifúngica contra *Candida albicans* (Osuna *et al.* 2005).

Hay evidencia que las plantas de la familia Sterculiaceae poseen cierta actividad antifúngica; sin embargo, la actividad mostrada por *M. villosa* fue menos marcada que en los casos citados anteriormente.

Actividad letal

El efecto letal de los materiales en larvas de *A. salina* permite estimar la potencia para producir la muerte de células cancerígenas en cultivo de tejidos, matar insectos y/o ejercer efectos farmacológicos, puesto que existe una correlación directamente proporcional entre la mortalidad de las larvas de *Artemia* y la citotoxicidad frente a las células 9KB (carcinoma nasofaríngeo humano) y la línea celular 3PS (P388) (leucemia *in vivo*), medida en términos de concentración letal media CL_{50} (a mayor mortalidad de larvas, menor CL_{50} y viceversa) (Pino y Jorge 2010).

Al determinar el promedio de nauplios muertos a las 48 horas de haber sido expuestos a los diferentes extractos (Tabla 6), se utilizaron estos datos para calcular la concentración letal media (CL_{50}). El EET presentó una potente actividad letal con una CL_{50} de 2,06 $\mu\text{g/mL}$, siguiendo en letalidad el EALT y el EEF con una CL_{50} de 10,00 $\mu\text{g/mL}$, el EALH con 74,68 $\mu\text{g/mL}$; siendo el EEH el menos letal, con una CL_{50} de 169,10 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 7). Estos resultados muestran que *M. villosa* es una fuente potente de compuestos letales, encontrándose una letalidad moderada en las hojas, y fuerte en las flores y tallo, siendo éste último el órgano más letal de la especie, especialmente en sus compuestos menos polares.

Tabla 6. Promedio de nauplios muertos a las 48 horas de haber sido expuestos a los distintos extractos.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Número de nauplios muertos				
	EEH	EET	EEF	EALH	EALT
1000	10	10	10	10	10
100	3	10	10	6	10
10	0	10	5	0	5
1	0	3	1	0	1
0,1	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	0

(EEH) extracto etéreo de la hoja, (EET) extracto etéreo del tallo; (EEF) extracto etéreo flores; (EALH) extracto alcohólico hoja; (EALT) extracto alcohólico tallo.

Tabla 7. Letalidad de los extractos de *M. villosa* frente al crustáceo *Artemia salina*.

Extracto	Método	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$, 48 h)
EEH	Binomial	169,10
EALH	Binomial	74,68
EEF	Binomial	10,00
EALT	Binomial	10,00
EET	Binomial	2,06

(EEH) extracto etéreo de la hoja, (EET) extracto etéreo del tallo; (EEF) extracto etéreo flores; (EALH) extracto alcohólico hoja; (EALT) extracto alcohólico tallo.

La mayoría de los extractos ensayados con el crustáceo *A. salina* mostraron una muy buena actividad letal, por lo que posiblemente *M. villosa* sea una planta con propiedades promisorias para la inhibición del crecimiento de células cancerígenas. Este hecho concuerda con la literatura, la cual expone excelente actividad letal en otras especies pertenecientes a la familia Sterculiaceae, como por ejemplo, el tallo de *M. tomentosa* (Espinoza 2010), la raíz de *M. chamaedrys* (Costa 2005), las flores y los frutos de *H. guazumifolia* Kunth (Vázquez 2010) y las flores de *H. baruensis* Jacq (Tarache 2007).

CONCLUSIONES

El análisis fitoquímico preliminar, reveló en la mayoría de los extractos de *M. villosa*, la presencia de esteroides insaturados y triterpenos pentacíclicos; flavonoides en los extractos alcohólicos de flores, hojas y tallos, además de fenilpropanoides en los dos últimos. *M. villosa* presenta propiedades antibacterianas, ejerciendo un mayor efecto ante las cepas de bacterias Gram-positivas; además de presentar una letalidad moderada en las hojas, y fuerte en las flores y tallo, pudiéndose inferir de esta manera que dicha planta es una fuente promisoriosa de metabolitos secundarios bioactivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAUER A, KIRBY A, SHERRIS J, TURK M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45(4):493-496.
- BHAKUNI R, SHUKLA N, THAKUR R. 1986. Ciclopeptide alkaloids from *Melochia corchorifolia*. *Phytochemistry*. 26(1):324-325.
- COMPAGNONE R, SUÁREZ A, CASTILLO A, DELLE-MORACHE

- F, FERRARI F. 1999. Estudio fitoquímico de algunas plantas de posible uso en la medicina tradicional venezolana. *Mem. Inst. Biol. Exp.* 2:187-190.
- COSTA G. 2005. Estudo fitoquímico da raiz da espécie *Melochia chamaedrys* St. Hil. Tesis de Doctorado en Química, Universidad Federal de Santa María, Santa María, Brasil, pp. 24.
- DIAS G, GRESSLER V, HOENZEL S, SILVA U, DALCOL I, MOREL A. 2007. Constituents of the roots of *Melochia chamaedrys*. *Phytochemistry*. 68(5):668-672.
- ESPINOZA B. 2010. Análisis fitoquímico y bioactividad de la planta *Melochia tomentosa* (Sterculiaceae). Trabajo de pregrado, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, pp. 33-41.
- KAPADIA G, SHUKLA Y, MORTON J, LLOYD H. 1977. New cyclopeptide alkaloids from *Melochia tomentosa*. *Phytochemistry*. 16(9):1431-1433.
- KAPADIA G, SHUKLA Y, BASAK S. 1980. The melosatins- a novel class of alkaloids from *Melochia tomentosa*. *Tetrahedron*. 36(17):2441-2447.
- MADUBUNYI I. 1995. Antimicrobial activities of the constituents of *Garcinia kola* seeds. *Int. J. Pharmacog.* 33(3):232-237.
- MARCANO D, HASEGAWA M. 2002. Fitoquímica Orgánica. Editorial Litopar, Caracas, Venezuela, pp. 21-22.
- MEYER B, FERRIGNI N, PUTMAN J, JACOBSEN L, NICHOLS D, MCLAUGHLIN J. 1982. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* 45(1):31-34.
- MONKS N, LERNER C, HENRIQUES A, FARIAS F, SCHAPOVAL E, SUYENAGA E, DA ROCHA A, SCHWARTSMANN G, MOTHES B. 2002. Anticancer, antichemotactic and antimicrobial activities of marine sponges collected off the coast of Santa Catarina, southern Brazil. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 281(1-2):1-12.
- MURRILLO E, MÉNDEZ J. 2007. Guía metodológica para la detección rápida de algunos núcleos secundarios. Universidad de Tolima, Ibagué, Colombia, pp. 8-25.
- OSUNA L, TAPIA M, AGUILAR A. 2005. Plantas tradicionales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Primera edición. Universitat de Barcelona. España. pp. 134-138.
- PINO O, JORGE F. 2010. Ensayo de *Artemia*: útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. *Rev. Protección Veg.* 25(1):34-43.
- REID K, JÁGER A, LIGHT M, MUIHOLLAND D, VAN STADEN J. 2005. Phytochemical and pharmacological screening of Sterculiaceae species and isolation of antibacterial compounds. *J. Ethnopharmacol.* 97(2):285-291.
- RONDÓN J. 2009. Revisión taxonómica del género de *Melochia* L. (Sterculiaceae) en Venezuela. *Acta Bot. Venez.* 32(1):34-38.
- RONDÓN J, CUMANA L. 2006. Clave preliminar para identificar especies de la familia Sterculiaceae en Venezuela. *Saber.* 18(2):142-152.
- SHUKLA Y, SOKOLOSKI A, FALES H. 1976. 6-methoxy-7,8-methylenedioxycoumarin from *Melochia tomentosa*. *Phytochemistry*. 15(11):1788-1788.
- STEPHAN C. 1977. Methods for calculating in LC₅₀. *En: American Society for Testing and Material (ASTM) Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation*. F.L. Mayer y J. Hamelink (eds), Philadelphia, Pennsylvania, pp. 65.
- TARACHE A. 2007. Separación e identificación de algunos compuestos constituyentes de la planta *Helicteres baruensis* Jacq. (Sterculiaceae) y su actividad biológica. Trabajo de pregrado, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, pp. 29-34.
- TSCHESCHE R, REUTEL I. 1968. Alkaloide aus Sterculiaceae, über peptidalkaloide aus *Melochia corchorifolia*. *Tetrahedron Lett.* 9(35):3817-3818.
- VÁSQUEZ V. 2010. Aislamiento e identificación de algunos constituyentes de la hoja de la planta *Helicteres guazumifolia* Kunth (Sterculiaceae) y su posible actividad biológica. Trabajo de pregrado, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, pp. 25-32.