

ANÁLISIS POR CG/EM Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE ALGUNAS FRACCIONES DEL EXTRACTO EN ACETATO DE ETILO DE *Pseudopterogorgia acerosa*

ANALYSIS BY GC/MS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME CHROMATOGRAPHIC FRACTIONS OF THE *Pseudopterogorgia acerosa* ETHYL ACETATE EXTRACT

GABRIEL ORDAZ¹, HAYDELBA D'ARMAS¹, JUAN HERNÁNDEZ², SHAILILI MORENO¹,
ÁNGEL CAMACHO³, DAYANIS YAÑEZ³

¹Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Química, Laboratorio de Productos Naturales y Lípidos, Cumaná, Venezuela, ²Laboratorio de Control de Calidad, Coca-Cola FEMSA, Valencia, Venezuela, ³Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas, Unidad de Estudios Básicos, Departamento de Ciencias, Sección de Química, Maturín, Venezuela

E-mail: gabrieljordazgonz@yahoo.com

RESUMEN

Algunas fracciones obtenidas mediante cromatografía en columna del extracto en acetato de etilo del octocoral *Pseudopterogorgia acerosa*, mostraron actividad antimicrobiana frente a las bacterias *Salmonella enteritidis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Citrobacter freundii* y frente al hongo *Candida albicans*, lo que indica la presencia de constituyentes bioactivos en dichas fracciones. Por su parte, el análisis por CG/EM de fracciones obtenidas mediante separación cromatográfica continua, permitió identificar los constituyentes: pristano, éter bis(3,5,5-trimetilhexílico), 4-octadecanolido, tricloroeicosilsilano, (2-endo,7-exo)-7-etil-2,4-dimetil-6,8-dioxabicyclo[3,2,1]oct-3-eno, 1-metoxi-12-octoherbertereno, butilftalilbutilglicolato, N-metil-N-(4-(4-metoxi-1-hexahidropiridil)-2-butinil)acetamida, diisobutilftalato, 3-(4-(difenilmetil)fenil)-1-fenil-4,4-dimetil-1-pentanona, por comparación con las bases de datos WILEY y el estudio de los patrones de fragmentación de sus espectros de masa.

PALABRAS CLAVE: Corales, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

Pseudopterogorgia acerosa, showed antimicrobial activity against *Salmonella enteritidis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Citrobacter freundii* bacteria and the fungus *Candida albicans*, indicating the presence of bioactive constituents in these fractions. Moreover, the GC/MS analysis of some subfractions obtained through continuous chromatographic separation, allowed the identification of the constituents: pristane, bis(3,5,5-trimethylhexyl) ether, 4-octadecanolide, trichloroeicosylsilane, (2-endo,7-exo)-7-ethyl-2,4-dimethyl-6,8-dioxabicyclo[3,2,1]oct-3-ene, 1-methoxy-12-octoherberterene, butylphthalylbutylglycolate, N-methyl-N-(4-(4-methoxy-1-hexahydropyridil)-2-butynil)acetamide, diisobutylphthalate, 3-(4-(diphenylmethyl)phenyl)-1-phenyl-4,4-dimethyl-1-pentanone, by comparison with WILEY databases and the study of the patterns of fragmentation of their mass spectra.

KEY WORDS: Soft corals, antibacterial activity, secondary metabolites.

INTRODUCCIÓN

El interés en los metabolitos secundarios marinos ha crecido en las últimas décadas debido al descubrimiento de compuestos biológicamente activos potencialmente aptos para aplicaciones clínicas (Montaser y Luesch 2011, Houssen y Jaspars 2012, Leal *et al.* 2012, Gao *et al.* 2013).

El estudio quimiotaconómico de los octocorales, en especial los del género *Pseudopterogorgia* (orden Gorgonacea, familia Plexauridae), han mostrado que este componente de la fauna invertebrada de las aguas poco profundas es una fuente importante de metabolitos secundarios con características estructurales únicas y con propiedades farmacodinámicas (Kate *et al.* 2010, Marrero *et al.* 2010, Correa *et al.* 2011, Correa *et al.* 2012).

Por otro lado, la técnica acoplada de cromatografía

de gases/espectrometría de masas (CG/EM), se ha convertido en una herramienta importante para identificar metabolitos secundarios (Marcano y Hasegawa 2002) tanto de origen marino (Abou-Elela *et al.* 2009, Ordaz *et al.* 2009, Hernández *et al.* 2010, Camacho *et al.* 2011) como terrestres (Flores *et al.* 2007, Castillo *et al.* 2010, Ordaz *et al.* 2011). En este sentido, el presente trabajo informa sobre algunos metabolitos secundarios identificados mediante CG/EM presentes en el extracto en acetato de etilo del coral *Pseudopterogorgia acerosa*, así como las propiedades antimicrobianas de algunas fracciones, como un aporte a la quimiotaconómica de esta especie en latitudes venezolanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección

Las muestras de *P. acerosa*, fueron obtenidas del

Golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela (10°30'-10°32' N y 64°12'-64°13' W). La identificación taxonómica fue realizada en la Fundación Pro-desarrollo de las Ciencias del Mar (FUNDEMAR) del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente.

Extracción

El material obtenido del octocoral, fue lavado con abundante agua destilada, troceado y macerado en metanol puro (99,9%) en extracciones sucesivas por espacio de 96 y 120 h, respectivamente. El extracto en metanol fue concentrado a presión reducida (aprox. 11 mbar) en un rotaevaporador marca Hidolph, para la obtención del extracto crudo. Una suspensión del mismo en una solución acuosa de metanol al 90% fue desgrasada con éter de petróleo puro (grado analítico) y luego se sometió a extracción con acetato de etilo. La fase en acetato de etilo fue secada con sulfato de sodio anhidro, filtrada y evaporada a presión reducida para obtener la fracción soluble en este solvente (FA).

Fraccionamiento cromatográfico

La FA (8,99 g), fue particionada mediante cromatografía en columna (CC), en una columna de vidrio de 4 x 65 cm empaquetada con sílica (Si) gel 35-70 mesh y hexano a una proporción en masa 1:30 (extracto:sílica). La fase móvil estuvo constituida por sistemas de solventes de polaridad creciente, iniciándose con hexano y luego, mezclas de éste con acetona y metanol en distintas proporciones en volumen. Se recolectaron 117 eluatos de aproximadamente 50 mL cada uno, los cuales fueron analizados por cromatografía de capa fina (CCF), empleándose placas de vidrio (20 x 20 cm) recubiertas con Si gel 60 mesh, con un espesor de 0,5 mm y, como agente revelador, una solución de molibdato de amonio al 5% en H₂SO₄ al 5%, agrupándose en 15 fracciones identificadas con las letras A hasta la O (6,78 g; 75,40%). Con base en el análisis por CCF y los rendimientos obtenidos de las fracciones, se seleccionaron C (0,1163 g; 1,72%) y E (0,9840 g; 14,51%) para ser particionadas sucesivamente mediante CC (Si gel 35-70 mesh).

Actividad antibacteriana

Los principios antibacterianos se detectaron utilizando cepas pertenecientes al Centro Venezolano de Colección de Microorganismos de *Bacillus subtilis* (CVCM438), *Citrobacter freundii* (CVCM924), *Staphylococcus aureus* (CVCM48), *Escherichia coli* (CVCM39), *Salmonella enteritidis* (CVCM497) y *Pseudomonas aeruginosa* (CVCM625) inoculadas en agar Müller-Hinton a 37°C. La acción antibacteriana se evidenció midiendo el diámetro (mm) del halo de inhibición del crecimiento bacteriano

alrededor de los discos impregnados con la fracción a probar (40 mg·mL⁻¹) (Bauer *et al.* 1966).

Actividad antifúngica

La actividad antifúngica fue evaluada mediante la utilización de cepas de los hongos *Candida albicans* (oportunistas), *Candida sp.* (oportunistas), *Fusarium sp.* (fitopatógenos), *Aspergillus niger* (fitopatógeno) y *Penicillium crustobum* (fitopatógeno), incubados en agar papa dextrosa a temperatura ambiente. La actividad fue detectada al medir el diámetro (mm) de los halos de inhibición que se observaron alrededor de los discos impregnados con la fracción a probar (40 mg·mL⁻¹) (Madubunyi 1995).

Caracterización

Las fracciones obtenidas de *P. acerosa* fueron disueltas en cloroformo e inyectadas en un cromatógrafo de gases marca Hewlett-Packard modelo 5890, serie II, con inyector de tipo Split-Splitless, el cual estaba acoplado con un espectrómetro de masas de la misma marca modelo 5971 A, con fuente de ionización por impacto electrónico de 70 eV. La temperatura del inyector fue 280°C. Se utilizó una columna de metil-silicona de 25 x 0,18 D.I x 0,17 mm de espesor y helio como gas de arrastre. La temperatura inicial del horno fue de 70°C con una rampa de 10°C/min hasta llegar a 300°C. La identificación de los metabolitos secundarios se realizó por comparación computarizada con las librerías WILEY 138 L y WILEY 275 L.

RESULTADOS

En la partición inicial del extracto crudo en metanol (17,0 g), se lograron solubilizar 8,99 g (52,88%) en acetato de etilo (FA). Los resultados de algunos ensayos químicos y de bioactividad realizados a estos extractos ha sido informado previamente (Ordaz *et al.* 2010).

Actividad antimicrobiana de las fracciones

Las fracciones C, D, E, F y G, mostraron inhibición del crecimiento de las bacterias *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. freundii* y *S. enteritidis* y del hongo *C. albicans* (Tabla 1). La fracción E, sólo mostró actividad frente *B. subtilis* y *S. enteritidis*, con halos de inhibición bactericida de 11 mm de diámetro en cada caso. La inhibición bacteriostática se observó para *B. subtilis* con las fracciones C (18 mm) y F (12 mm), para *S. aureus* con la fracción F (19 mm) y para *S. enteritidis* con la fracción D (12 mm). El resto de las fracciones mostraron halos de inhibición bactericida entre 12 y 21 mm de diámetro frente a las cuatro bacterias que resultaron sensibles (Tabla 1). En cuanto a los hongos, *C. albicans* fue la única especie (de las cinco utilizadas) que resultó sensible a las fracciones evaluadas (excepto a la

fracción F), con halos de inhibición fungicida que variaron entre 7 y 10 mm de diámetro (Tabla 1).

Tabla 1. Actividad antimicrobiana mostrada por algunas fracciones cromatográficas del extracto soluble en acetato de etilo.

Microorganismo	Diámetro del halo de inhibición ^a (mm)				
	C	D	E	F	G
Bacterias					
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	18	-	19 ^b	21
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	18 ^b	12	11	12 ^b	13
<i>Citrobacter freundii</i>	20	15	-	15	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	18	12 ^b	11	12	13
Hongos					
<i>Candida sp.</i>	-	-	-	-	-
<i>Fusarium sp.</i>	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	7	8	9	-	10
<i>Penicillium crustobum</i>	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-

^a Medido sobre discos de 5 mm de diámetro impregnados con la fracción (40 mg.mL⁻¹); ^b Bacteriostático; -: Inactivo

Análisis de la fracción C

La fracción C (0,1163 g) fue particionada mediante CC con mezclas de hexano-acetato de etilo, obteniéndose 6 fracciones (C1 a C6; 66,38%), de las cuales C2 (0,0204 g) fue fraccionada por CC con mezclas de hexano-diclorometano en 5 nuevas fracciones (C2.1 a C2.5; 95,10%). De acuerdo a la separación observada en el análisis por CCF, se seleccionó C2.2 (0,0038 g) para el análisis por CG/EM.

El cromatograma obtenido para esta fracción (Fig. 1), muestra cuatro picos significativos identificados como: **pristano** ($T_r = 18,087$ min; $m/z = 268$ [M]⁺, 183 [M-C₆H₁₃]⁺, 155 [M-C₈H₁₇]⁺, 141 [M-C₉H₁₉]⁺, 127 [M-C₁₀H₂₁]⁺, 113 [M-C₁₁H₂₃]⁺, 99 [M-C₁₂H₂₅]⁺, 97 [M-C₁₂H₂₇]⁺, 85 [M-C₁₃H₂₇]⁺, 71 [M-C₁₄H₂₉]⁺, 67 [M-C₁₄H₃₃]⁺, 57 [M-C₁₅H₃₁]⁺ (PB), 43 [M-C₁₆H₃₃]⁺,

41 [M-C₁₆H₃₅]⁺), **éter bis(3,5,5-trimetilhexílico)** ($T_r = 19,797$ min; $m/z = 270$ [M]⁺, 97 [M-C₁₁H₂₅O]⁺, 83 [M-C₁₂H₂₇O]⁺, 82 [M-C₁₂H₂₈O]⁺, 69 [M-C₁₃H₂₉O]⁺, 57 [M-C₁₄H₂₉O]⁺, 55 [M-C₁₄H₃₁O]⁺, 44 [M-C₁₆H₃₄]⁺, 43 [M-C₁₅H₃₁O]⁺ (PB)), **4-octadecanolido** ($T_r = 22,970$ min; $m/z = 282$ [M]⁺, 85 [M-C₁₂H₂₁O₂]⁺/ [M-C₁₄H₂₉]⁺, 83 [M-C₁₂H₂₃O₂]⁺, 71 [M-C₁₃H₂₃O₂]⁺, 69 [M-C₁₃H₂₅O₂]⁺, 57 [M-C₁₄H₂₅O₂]⁺/ [M-C₁₅H₂₉O]⁺/ [M-C₁₆H₃₃]⁺ (PB), 55 [M-C₁₄H₂₇O₂]⁺, 44 [M-C₁₇H₃₄]⁺, 43 [M-C₁₅H₂₇O₂]⁺, 41 [M-C₁₅H₂₉O₂]⁺) y **tricloroeicosililano** ($T_r = 25,405$ min; $m/z = 414$ [M]⁺, 111 [M-C₁₂H₂₆Cl₃Si]⁺, 98 [M-C₁₅H₃₁Cl₃Si]⁺, 97 [M-C₁₃H₂₈Cl₃Si]⁺, 84 [M-C₁₆H₃₃Cl₃Si]⁺, 83 [M-C₁₄H₃₀Cl₃Si]⁺, 69 [M-C₁₅H₃₂Cl₃Si]⁺, 55 [M-C₁₆H₃₄Cl₃Si]⁺ (PB), 43 [M-C₁₇H₃₄Cl₃Si]⁺, 41 [M-C₁₇H₃₆Cl₃Si]⁺).

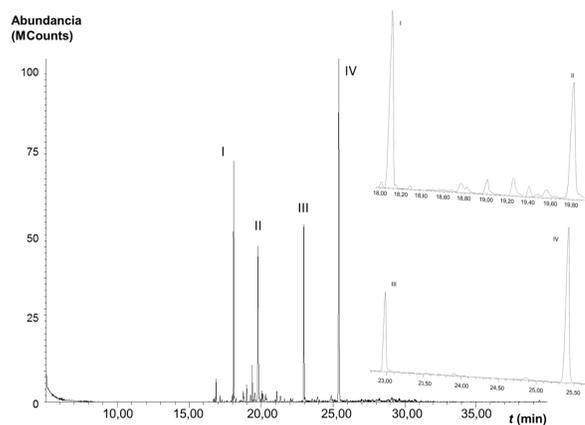


Figura 1. Cromatograma de la subfracción C2.2, indicando los picos correspondientes a los metabolitos mayoritarios identificados (I: pristano; II: éter bis(3,5,5-trimetilhexílico); III: 4-octadecanolido; IV: tricloroeicosililano).

Análisis de la fracción E

La fracción E (0,9840 g) fue particionada mediante CC con mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-acetona, obteniéndose 9 fracciones (E1 a E9; 96,32%), de las cuales E8 (0,4652 g) se fraccionó mediante CC con mezclas de hexano-acetona en 5 nuevas fracciones (E8.1 a E8.5; 81,41%).

La fracción E8.2 (0,1056 g) se particionó mediante CC con mezclas de hexano-acetato de etilo en 4 fracciones (E8.2.1 a E8.2.4; 91,67%), de las cuales E8.2.3 (0,0846 g), se fraccionó por CC con mezclas de éter de petróleo-acetato de etilo en 4 nuevas fracciones (E8.2.3.1 a E8.2.3.4; 32,65%). De éstas, la fracción E8.2.3.3 fue purificada mediante CC con hexano-acetato de etilo en proporciones 7:3 y 1:4, observándose un posible compuesto puro en el análisis por CCF, por lo que decidió analizarse por CG/EM. Por su parte, la fracción E8.3

(0,2086 g) fue particionada mediante CC con mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-acetona en 4 fracciones (E8.3.1 a E8.3.4; 23,49%), de la cuales E8.3.3 (0,0107g) se fraccionó mediante CC con hexano-acetato de etilo en proporciones 1:4 y 1:9, obteniéndose 3 fracciones (E8.3.3.1 a E8.3.3.3; 84,11%). De éstas, se seleccionó E8.3.3.1 para el análisis por CG/EM.

El cromatograma de la fracción E8.2.3.3 (Fig. 2) muestra un constituyente mayoritario a un tiempo de retención de 19,787 min, correspondiente al compuesto **1-metoxi-12-octoberbteno** ($m/z = 246 [M]^+$, 176 $[M-C_5H_{10}]^+$, 175 $[M-C_5H_{11}]^+$, 162 $[M-C_6H_{12}]^+$, 161 $[M-C_5H_9O]^+$, 133 $[M-C_8H_{17}]^+$, 119 $[M-C_8H_{15}O]^+$, 117 $[M-C_8H_{17}O]^+$, 105 $[M-C_9H_{17}O]^+$, 103 $[M-C_9H_{19}O]^+$, 91 $[M-C_{10}H_{19}O]^+$ (PB), 77 $[M-C_{10}H_{17}O_2]^+$, 71 $[M-C_{11}H_{11}O_2]^+$, 65 $[M-C_{11}H_{17}O_2]^+$, 55 $[M-C_{12}H_{15}O_2]^+$, 41 $[M-C_{13}H_{17}O_2]^+$). Asimismo, a tiempos de retención de 18,765 y 21,001 min, se observan dos constituyente minoritarios que se correlacionan respectivamente con los constituyentes **(2-endo, 7-exo)-7-etil-2,4-dimetil-6,8-dioxabicyclo(3,2,1)-oct-3-eno** ($m/z = 167 [M-1]^+$,

149 $[M-H_3O]^+$ (PB), 132 $[M-H_4O_2]^+$, 113 $[M-C_4H_7]^+$, 104 $[M-C_2H_8O_2]^+$, 97 $[M-C_4H_7O]^+$, 83 $[M-C_4H_5O_2]^+$, 71 $[M-C_6H_9O]^+$, 57 $[M-C_7H_{11}O]^+$, 55 $[M-C_6H_9O_2]^+$, 43 $[M-C_8H_{13}O]^+$) y **butilftalilbutilglicolato** ($m/z = 336 [M]^+$, 278 $[M-C_4H_{10}]^+$, 223 $[M-C_5H_{17}]^+$, 205 $[M-C_8H_{19}O]^+$, 192 $[M-C_8H_{16}O_2]^+$, 179 $[M-C_9H_{17}O_2]^+$, 160 $[M-C_{11}H_{21}O_2]^+$, 155 $[M-C_{11}H_{17}O_2]^+$, 149 $[M-C_{10}H_{20}O_3]^+$ (PB), 141 $[M-C_{12}H_{19}O_2]^+$, 133 $[M-C_{10}H_{19}O_4]^+$, 123 $[M-C_{12}H_{21}O_3]^+$, 121 $[M-C_{11}H_{19}O_4]^+$, 111 $[M-C_{13}H_{21}O_3]^+$, 104 $[M-C_{11}H_{20}O_5]^+$, 97 $[M-C_{13}H_{19}O_5]^+$, 93 $[M-C_{12}H_{19}O_5]^+$, 85 $[M-C_{14}H_{19}O_4]^+$, 76 $[M-C_{12}H_{20}O_6]^+$, 71 $[M-C_{15}H_{21}O_4]^+$, 65 $[M-C_{13}H_{19}O_6]^+$, 57 $[M-C_{14}H_{15}O_6]^+$, 55 $[M-C_{15}H_{21}O_5]^+$, 41 $[M-C_{16}H_{23}O_5]^+$).

Por otro lado, el cromatograma de la fracción E8.3.3.1 (Fig. 3) muestra tres constituyentes mayoritarios identificados como **N-metil-N-(4-(4-metoxi-1-hexahidropiridil)-2-butil)acetamida** ($T_r = 19,797$ min; $m/z = 238 [M]^+$, 165 $[M-C_3H_5O]^+$, 141 $[M-C_5H_7NO]^+$, 125 $[M-C_6H_{11}NO]^+$, 119 $[M-C_5H_{13}NO_2]^+$, 111 $[M-C_7H_{13}NO]^+$, 109 $[M-C_6H_{11}NO_2]^+$, 97 $[M-C_7H_{11}NO_2]^+$, 95 $[M-C_8H_{17}NO]^+$, 83 $[M-C_8H_{13}NO_2]^+$, 81

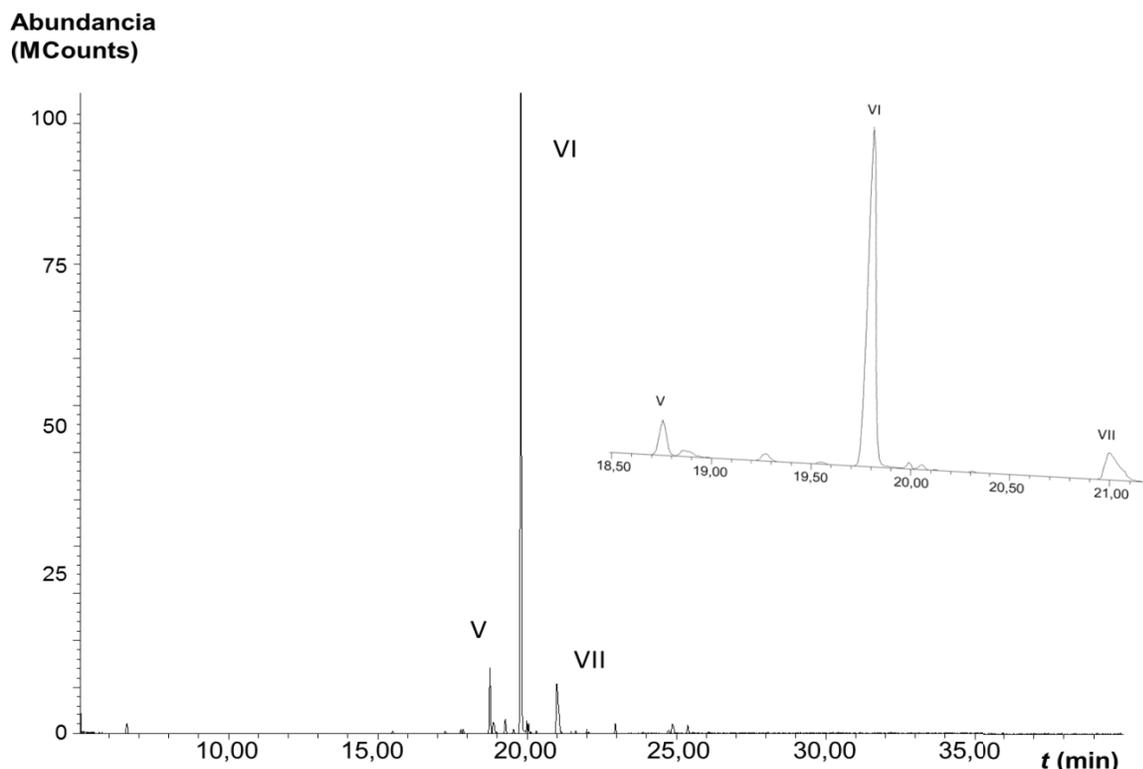


Figura 2. Cromatograma de la subfracción E8.2.3.3, indicando los picos correspondientes a los metabolitos mayoritarios identificados. (V: (2-endo,7-exo)-7-etil-2,4-dimetil-6,8-dioxabicyclo[3,2,1]oct-3-eno; VI: 1-metoxi-12-octoberbteno; VII: butilftalilbutilglicolato).

[M-C₈H₁₅NO₂]⁺, 71 [M-C₁₀H₁₆NO]⁺, 69 [M-C₈H₁₃N₂O₂]⁺, 67 [M-C₉H₁₇NO₂]⁺, 57 [M-C₁₁H₁₉NO]⁺ (PB), 43 [M-C₁₁H₁₉N₂O]⁺, **diisobutilftalato** ($T_r = 19,999$ min; $m/z = 278$ [M]⁺, 223 [M-C₄H₇]⁺, 149 [M-C₈H₁₇O]⁺ (PB), 104 [M-C₉H₁₈O₃]⁺, 76 [M-C₁₀H₁₈O₄]⁺, 57 [M-C₁₂H₁₃O₄]⁺, 44

[M-C₁₅H₂₂O₂]⁺) y **3-(4-(difenilmetil)fenil)-1-fenil-4,4-dimetil-1-pentanona** ($T_r = 22,938$ min; $m/z = 432$ [M]⁺, 279 [M-C₁₂H₁₀]⁺, 243 [M-C₁₃H₁₇O]⁺, 167 [M-C₁₉H₂₁O]⁺, 149 [M-C₂₂H₁₉]⁺ (PB), 83 [M-C₂₇H₂₅]⁺, 70 [M-C₂₇H₂₂O]⁺, 57 [M-C₂₈H₂₃O]⁺, 55 [M-C₂₉H₂₉]⁺, 41 [M-C₃₀H₃₁]⁺).

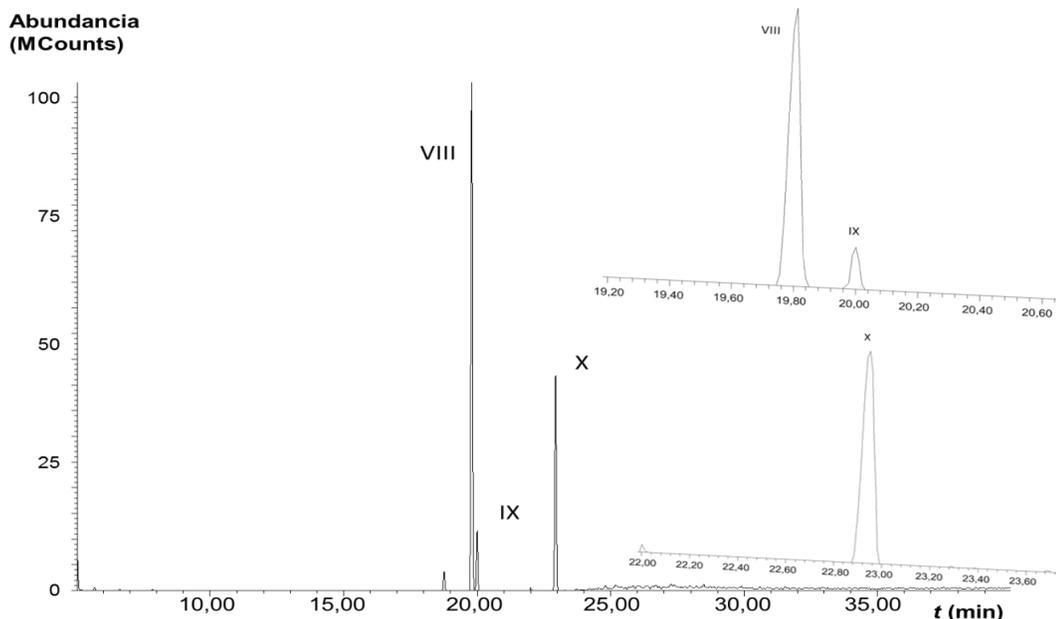


Figura 3. Cromatograma de la subfracción E8.3.3.1, indicando los picos correspondientes a los metabolitos mayoritarios identificados. (VIII: N-metil-N-(4-(4-metoxi-1-hexahidropiridil)-2-butilil)acetamida; IX: diisobutilftalato; X: 3-(4-(difenilmetil)fenil)-1-fenil-4,4-dimetil-1-pentanona).

DISCUSIÓN

La inhibición bacteriana y fúngica mostrada por las fracciones obtenidas del extracto en acetato de etilo de *P. acerosa* (Tabla 1), indican la presencia de constituyentes con potencial antimicrobiano significativo, de moderado a fuerte, que pudieron actuar frente a esos microorganismos de manera independiente o por efecto sinérgico. Sin embargo, estos resultados no pueden asociarse a una bioactividad selectiva debido al número reducido de microorganismos utilizados y a que no se trataban de constituyentes puros, puede ser que los constituyentes fisiológicamente activos de estas fracciones, no se encontraban en una concentración adecuada (suficiente) para actuar frente a algunos de los microorganismos, en el que se observó inocuidad o un efecto antagónico de la bioactividad en esos casos por la presencia de más de un constituyente. De esta especie gorgónea se ha informado previamente la actividad antimicrobiana de algunas fracciones cromatográficas obtenidas del extracto lipídico (Hernández *et al.* 2010).

En cuanto a la identificación mediante CG/EM, de los compuestos identificados en el cromatograma de la fracción C2.2 (Fig. 1), el compuesto I (18,09 min) desplegó en su espectro de masas un ion molecular a m/z 268, el cual se correlaciona con la fórmula molecular C₁₉H₄₀ (calculado 268,31 g·mol⁻¹) del pristano o norfitano (2,6,10,14-tetrametilpentadecano), un derivado diterpeno saturado. De igual forma, el compuesto II (19,80 min), mostró en su espectro de masas, un ion molecular a m/z 270, correspondiente a la fórmula molecular C₁₈H₃₈O (calculado 270,29 g·mol⁻¹) y señales significativas que se corresponden con el éter bis(3,5,5-trimetilhexílico). Asimismo, en el espectro de masas del compuesto III (22,97 min), se observó un ion molecular a m/z 282, correspondiente a la fórmula molecular C₁₈H₃₄O₂ (calculado 282,26 g·mol⁻¹) que se correlaciona con la estructura del 4-octadecanolido o γ -estearolactona (dihidro-5-tetradecil-2(3H)-furanona). Mientras, el compuesto IV (25,40 min), desplegó un ion molecular en su espectro de masas a m/z 414, el cual se correlaciona

con la fórmula molecular $C_{20}H_{41}Cl_3Si$ (calculado $414,20 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) del tricloroeicosilsilano. El ion padre o pico base (ion más abundante) en estos casos (m/z de 57, 43, 57 y 55, respectivamente) se corresponde con fracciones propílicas-butílicas de las cadenas carbonadas propias de los compuestos identificados.

Por otro lado, de los compuestos identificados en el cromatograma de la fracción E8.2.3.3 (Fig. 2), el espectro de masas del compuesto V (18,76 min) mostró un ion molecular a m/z 168, en correlación con la fórmula molecular $C_{10}H_{16}O_2$ (calculado $168,12 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) del (2-endo, 7-exo)-7-etil-2,4-dimetil-6,8-dioxabicyclo(3,2,1)-oct-3-eno, un derivado oxigenado de monoterpene. Además, el compuesto VI (19,79 min) mostró en su espectro de masas un ion molecular a m/z 246, que se corresponde con la fórmula molecular $C_{16}H_{22}O_2$ (calculado $246,16 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) del 1-metoxi-12-octoberbteno o (*S*)-4-metoxi-3-(1,2,2-trimetilciclopentil)benzaldehído. Mientras, en el espectro de masas del compuesto VII (21,00 min) se observó un ion molecular a m/z 336, correspondiente a la fórmula molecular $C_{18}H_{24}O_6$ (calculado $336,16 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) y picos significativos del butilftalilbutilglicolato.

En cuanto a los constituyentes identificados en el cromatograma de la fracción E8.3.3.1 (Fig. 3), el espectro de masas del compuesto VIII (19,80 min), mostró un ion molecular a m/z 238, el cual corresponde a la fórmula molecular $C_{13}H_{22}N_2O_2$ (calculado $238,17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) del *N*-metil-*N*-(4-(4-metoxi-1-hexahidropiridil)-2-butinil)acetamida. Asimismo, el compuesto IX (20,00 min), desplegó un ion molecular a m/z 278, el cual se corresponde con la fórmula molecular $C_{16}H_{22}O_4$ (calculado $278,15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) y picos significativos para el diisobutilftalato. Mientras, en el espectro de masas del compuesto X (22,94 min) se observó un ion molecular a m/z 432 correspondiente a la fórmula molecular $C_{32}H_{32}O$ (calculado $432,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) del 3-(4-(difenilmetil)fenil)-1-fenil-4,4-dimetil-1-pentanona.

La presencia de alquilftalatos como el butilftalilbutilglicolato identificado en la fracción E8.2.3.3 y el diisobutilftalato identificado en E8.3.3.1, se presume generalmente como un producto artificial (no propio de la especie) debido al proceso de aislamiento o análisis (Bhakuni y Rawat 2005), sin embargo, algunos estudios señalan que pueden ser biosintetizados por las propias especies (Namikoshi *et al.* 2006) y se ha informado dentro de los constituyentes identificados mediante CG/EM de la miel (Bahaffi y Al-Lihaibi 2005), los aceites esenciales de algunas plantas (Ordaz *et al.* 2011) y en fracciones del octocoral *Eunicea* sp. (Ordaz *et al.* 2009).

CONCLUSIONES

La inhibición del crecimiento de las bacterias *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. freundii* y *S. enteritidis* y del hongo *C. albicans* por las fracciones C, D, E, F y G, evidencia la presencia de sustancias bioactivas con potencial antibacteriano en las mismas. Los constituyentes identificados mediante CG/EM en la fracción C2.2 fueron derivados lipídicos de cadenas largas, mientras que en las fracciones E8.2.3.3 y E8.3.3.1, se encontraron principalmente derivados bencenoides.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a Iván López y José Lanza, así como al Departamento de Química y Rectorado de la Universidad de Oriente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU-ELELA G, ABD-ELNABY H, IBRAHIM H, OKBAH M. 2009. Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. *World Appl. Sci. J.* 7(7):872-880.
- BAHAFFI S, AL-LIHAIBI S. 2005. Determination of volatile organic compounds in local honey by gas chromatography-mass spectrometer. *Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Series B.* 51(2):1-12.
- 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 D, RAWAT D. 2006. Bioactive marine natural products. Anamaya/Springer. India. pp. 396 (p.215).
- CAMACHO A, D'ARMAS H, ORDAZ G, HERNANDEZ J. 2011. Constituyentes químicos de algunas fracciones bioactivas del extracto apolar del octocoral caribeño *Muricea* sp. identificados mediante CG/EM. *Ciencia.* 19(4):285-292.
- CASTILLO D, LANZA J, CRESCENTE O. 2010. Identificación preliminar de algunos constituyentes del tallo de *Paulliniafuscescens* (Sapindaceae) y actividad biológica. *Avances en Química.* 5(1):57-61.
- CORREA H, ARISTIZABAL F, DUQUE C, KERR R. 2011. Cytotoxic and antimicrobial activity of pseudopterogens and seco-pseudopterogens isolated from the octocoral *Pseudopterogorgia elisabethae* of San Andrés and Providencia Islands (Southwest Caribbean Sea). *Mar. Drugs.* 9(3):334-344.

- CORREA H, ZORRO P, AREVALO-FERRO C, PUYANA M, DUQUE C. 2012. Possible ecological role of pseudopterins G and PU and seco-pseudopterins J and K from the Gorgonian *Pseudopterogorgia elisabethae* from Providencia Island (SW Caribbean) in regulating microbial surface communities. *J. Chem. Ecol.* 38(9):1190-1202.
- FLORES M, D'ARMAS H, HERRERA H. 2007. Identificación de algunos constituyentes químicos de las hojas de *Chromolaena laevigata* mediante cromatografía de gas-espectrometría de masas. Parte II. *Ciencia.* 15(3):1-12.
- GAO C, YI X, HUANG R, YAN F, HE B, CHEN B. 2013. Alkaloids from Corals. *Chem. Biodivers.* 10(8):1435-1447.
- HERNÁNDEZ J, D'ARMAS H, ORDAZ G, CAMACHO A. 2010. Identificación de algunos constituyentes químicos del extracto soluble en éter de petróleo del octocoral *Pseudopterogorgia acerosa* mediante CG/EM y su posible actividad biológica. *Ciencia.* 18(1):26-33.
- HOUSSEN W, JASPARS M. 2012. Isolation of Marine Natural Products. In: *Naturals Products Isolation.* Humana Press, pp. 367-392.
- KATE A, RICHARD K, RAMANATHAN B, KERR R. 2010. A halogenated pseudopterane diterpene from the Bahamian octocoral *Pseudopterogorgia acerosa*. *Can. J. Chem.* 88(4):318-322.
- LEAL M, PUGA J, SERÓDIO J, GOMES N, CALADO R. 2012. Trends in the discovery of new marine natural products from invertebrates over the last two decades – Where and what are we bioprospecting? *PloS ONE.* 7(1):e30580. doi:10.1371/journal.pone.0030580
- MARCANO D, HASEGAWA M. 2002. *Fitoquímica organica.* UCV, Litopar, Venezuela.
- MADUBUNYI I. 1995. Antimicrobial activities of the constituents of *Garcinia kola* seeds. *Int. J. Pharmacog.* 33(3):232-237.
- MARRERO J, RODRIGUEZ I, RODRIGUEZ A. 2010. The natural products chemistry of the gorgonian genus *Pseudopterogorgia* (Octocorallia: Gorgoniidae). *Comprehensive natural products II: chemistry and biology.* 1st edition. Edited by Mander L, Liu HW. Oxford: Elsevier. pp. 363-428.
- MONTASER R, LUESCH H. 2011. Marine natural products: a new wave of drugs? *Future Med. Chem.* 3(12):1475-1489.
- NAMIKOSHI M, FUJIWARA T, NISHIKAWA T, UKAI K. 2006. Natural abundance ¹⁴C content of dibutyl phthalate (DBP) from three marine algae. *Mar. Drugs.* 4(1):290-297.
- ORDAZ G, D'ARMAS H, HERNÁNDEZ J, CAMACHO A. 2009. Identificación mediante CG/EM de algunos constituyentes con actividad biológica del extracto apolar del celenterado *Eunicea* sp. *Ciencia.* 17(3):245-254.
- ORDAZ G, D'ARMAS H, YAÑEZ D, HERNÁNDEZ J, CAMACHO A. 2010. Metabolitos secundarios, letalidad y actividad antimicrobiana de los extractos de tres corales y tres moluscos marinos de Sucre, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 58(2):677-688.
- ORDAZ G, D'ARMAS H, YAÑEZ D, MORENO S. 2011. Composición química de los aceites esenciales de las hojas de *Helicteres guazumifolia* (Sterculiaceae), *Piper tuberculatum* (Piperaceae), *Scoparia dulcis* (Arecaceae) y *Solanum subinerme* (Solanaceae), recolectadas en Sucre, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 59(2):585-595.