

Caracterización de flavonoides y actividad antimicrobiana del extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray

Characterization of flavonoids and antimicrobial activity of the methanolic extract of leaves of *Luma chequen* (Molina) A. Gray

Gustavo Adolfo Fernández-Rebaza ^{1,a}, Alfonso David Balladares Quintana ^{1,b}, Edith Celia Soto-Tantaraico ^{1,c}, Elizabeth Nivia Zeña-Chiara ^{1,d}, Maria Elena Salazar-Salvatierra ^{2,e}, Pablo Enrique Bonilla-Rivera ^{1,f}

¹ Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara", Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

² Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo", Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

^a Químico farmacéutico. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3385-9121>

^b Estudiante de farmacia y bioquímica. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3002-2804>

^c Estudiante de farmacia y bioquímica. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4971-2653>

^d Estudiante de farmacia y bioquímica. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4311-4134>

^e Doctora en farmacia y bioquímica. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5661-4752>

^f Doctor en farmacia y bioquímica. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7286-6810>

An Fac med. 2024;85(4):398-406. / DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v85i4.27473>.

Correspondencia:

Alfonso David Balladares Quintana
alfo.david26@gmail.com

Recibido: 15 de agosto 2024

Aprobado: 24 de octubre 2024

Publicación en línea: 11 de noviembre 2024

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Autofinanciado.

Contribuciones de autoría: GFR: conceptualización, metodología, validación, análisis formal, investigación, escritura y preparación del borrador original, redacción, revisión y edición, supervisión, visualización, administración de proyecto y adquisición de fondos. PBR: conceptualización, metodología, recursos, validación, análisis formal, supervisión, escritura y preparación del borrador original, redacción, revisión y edición, adquisición de fondo. MSS: metodología, recursos, validación, investigación, análisis formal y supervisión. ABQ, EST y EZC: metodología, validación, análisis formal, investigación, escritura y preparación del borrador original, visualización, redacción, revisión y edición.

Citar como: Fernández-Rebaza G, Balladares A, Soto-Tantaraico E, Zeña-Chiara E, Salazar-Salvatierra M, Bonilla-Rivera P. Caracterización de flavonoides y actividad antimicrobiana del extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray. An Fac med. 2024; 85(4):398-406. DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v85i4.27473>.

Resumen

Introducción. La investigación de nuevas alternativas a la resistencia a antimicrobianos ha conllevado a la exploración de extractos de plantas medicinales. *Luma chequen* posee actividad antimicrobiana, pero no han sido identificados los metabolitos secundarios. **Objetivo.** Caracterizar las estructuras químicas de flavonoides y evaluar la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray. **Métodos.** Se elaboró el extracto metanólico de hojas y se evaluó su solubilidad con solventes de polaridad creciente, luego se realizó un tamizaje fitoquímico identificando distintos metabolitos secundarios. La cromatografía en capa fina (CCF) utilizó estándares y reveladores. Se caracterizaron las estructuras químicas de los flavonoides presentes en el extracto metanólico mediante espectroscopia UV-visible y reactivos de desplazamiento. La actividad antimicrobiana se determinó por el método de difusión en agar en pozos frente a bacterias de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. **Resultados.** El extracto fue soluble en solventes de mediana polaridad. La CCF detectó la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides. La espectroscopia UV-visible identificó cinco estructuras químicas tipo flavonoides, entre ellas cuatro flavonas y una aurona. El extracto presentó actividad antimicrobiana frente a bacterias gram positivas y gram negativas a concentraciones de 50 mg/mL a 100 mg/mL. **Conclusiones.** Se detectaron diferentes metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico y cromatografía; además, se caracterizó mediante espectrofotometría UV-visible y reactivos de desplazamiento cinco estructuras de flavonoides. Asimismo, el extracto presentó actividad antimicrobiana frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

Palabras clave: *Luma chequen*; Extractos Vegetales; Cromatografía en Capa Delgada; Espectrofotometría Ultravioleta; Flavonoides; Antiinfecciosos (Fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Introduction. The research of new alternatives to antimicrobial resistance has led to the exploration of medicinal plant extracts. *Luma chequen* has antimicrobial activity, but the secondary metabolites have not been identified. **Objective.** Characterize the chemical structures of flavonoids and to evaluate the antimicrobial activity of the methanolic extract of *Luma chequen* (Molina) A. Gray leaves. **Methods.** The methanolic extract of the leaves was prepared and its solubility with solvents of increasing polarity was evaluated, then a phytochemical screening was carried out, identifying different secondary metabolites. Thin layer chromatography (TLC) used standards and developers. The chemical structures of the flavonoids present in the methanolic extract were characterized by UV-Visible spectroscopy and displacement reagents. The antimicrobial activity was determined by the agar-well diffusion assay against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Results.** The extract was soluble in solvents of medium polarity. TLC detected the presence of phenolic compounds, flavonoids and alkaloids. UV-Visible spectroscopy identified five flavonoid chemical structures, including four flavones and one aurone. The extract presented broad-spectrum antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria at concentrations of 50 to 100 mg/mL. **Conclusions.** Different secondary metabolites were detected by phytochemical screening and chromatography; in addition, five flavonoid structures were characterized by UV-visible spectrophotometry and diagnostic reagents. Likewise, the extract presented antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*.

Keywords: *Luma chequen*; Plant Extracts; Thin Layer Chromatography; Spectrophotometry, Ultraviolet; Flavonoids; Anti-Infective Agents (Source: MeSH NCBI).

INTRODUCCIÓN

Luma chequen (Molina) A. Gray, comúnmente denominada «Arrayán», pertenece a la familia Myrtaceae. Crece de forma silvestre y es cultivada en Sudamérica y Europa, en el Perú se encuentra en Huaraz, Tarma, Huancayo, Huánuco, Lima, Cusco y Arequipa desde los 2400 a 3400 metros sobre el nivel del mar ⁽¹⁾. Tradicionalmente sus hojas y ramas son utilizadas para tratar el insomnio, la ansiedad, las infecciones posparto y los trastornos gastrointestinales y respiratorios ⁽²⁾. Sobre su composición fitoquímica; el aceite esencial contiene α -pineno [44% ⁽³⁾ y 62,89% ⁽⁴⁾]; por otra parte, los frutos contienen polifenoles, derivados de flavonoles y antocianinas ⁽⁵⁾.

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) genera la aparición de microorganismos multidrogosresistentes ⁽⁵⁾. El aumento de bacterias, hongos o parásitos resistentes a los medicamentos se debe a factores como el uso inadecuado de antibióticos en los pacientes y el uso extensivo de antibióticos en la industria animal ⁽⁶⁾. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), más de 700 mil muertes anuales en el mundo debido a infecciones por bacterias resistentes a los antimicrobianos, lo ha convertido en un serio problema de salud pública ⁽⁷⁾. Ante esta situación, los metabolitos en plantas medicinales podrían servir como una alternativa de agentes modificadores de la resistencia debido a su estructura química de alcaloides, taninos, polifenoles, etc ⁽⁸⁾.

Estudios previos han demostrado la capacidad antimicrobiana, tanto del extracto como del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray, ante cepas de referencia y patógenos bacterianos, como el *Staphylococcus aureus*, sin embargo, no se ha explorado la caracterización química de los metabolitos secundarios asociados a dicha actividad ^(4, 9, 10). Por ello, el objetivo del presente estudio fue caracterizar los flavonoides que conforman el extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray, así como evaluar su actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar en pozos frente a bacterias de referencia internacional (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*).

MÉTODOS

Diseño del estudio y material vegetal

Realizamos un estudio experimental para evaluar la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray. Además, caracterizamos las estructuras químicas de los flavonoides. Las hojas de *Luma chequen* fueron recolectadas en el distrito de Santiago de Chuco, ubicado a una altitud de 3100 m.s.n.m (8°08'48.7"S, 78°10'18.8"W) en la provincia de Santiago de Chuco, departamento de La Libertad, Perú, durante junio de 2015. Las hojas fueron identificadas taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú (Constancia 235-USM-2015), con la siguiente clasificación taxonómica; división: Magnoliophyta, clase: Magnoliopsida, subclase: Rosidae, orden: Myrtales, familia: Myrtaceae, género: *Luma* y especie: *Luma chequen* (Molina) A. Gray.

El estudio fue ejecutado durante el mes febrero del año 2020 en el Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" (laboratorio de química orgánica), y el Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo" (laboratorio de microbiología) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Preparación del extracto

Las hojas fueron seleccionadas para eliminar aquellas en mal estado, luego fueron limpiadas con agua destilada y secadas inicialmente a temperatura ambiente durante 48 horas. Posteriormente,

las hojas fueron secadas en una estufa a 40 °C durante 72 horas para reducir el contenido de humedad a menos del 10 %. Una vez secas, las hojas fueron pulverizadas utilizando un molino de cuchillas hasta obtener un polvo fino con un tamaño de partícula promedio de 0,5 mm.

El polvo obtenido fue sometido a maceración a temperatura ambiente durante 7 días, utilizamos metanol como solvente en una proporción de 1:10 (peso/volumen), con agitación periódica cada 12 horas. Al finalizar la maceración, filtramos el extracto a través de papel filtro Whatman N° 42 y evaporamos el solvente bajo presión reducida en un evaporador rotatorio a 40 °C, obteniéndose el extracto metanólico seco de hojas de *Luma chequen* ⁽¹¹⁾ (Figura 1).

Ensayo de solubilidad

Para determinar la solubilidad del extracto metanólico, se disolvieron 5 mg del extracto en 1 mL de diferentes solventes de polaridad creciente, incluyendo agua, metanol, etanol, butanol, acetato de etilo, cloroformo, diclorometano, tolueno y benceno. Agitamos las mezclas durante 10 minutos a temperatura ambiente y evaluamos la solubilidad de manera visual. Clasificamos la solubilidad como alta, media o baja en función de la transparencia de la solución obtenida.

Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico fue realizado con reacciones colorimétricas y de precipitación para la identificación de diferentes grupos de metabolitos secundarios. Empleamos reactivos específicos como Molisch, Dragendorff, y Shinoda, entre otros, siguiendo protocolos estándar



Figura 1. Flujograma de extracción de compuestos bioactivos del extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray.

descritos por Lock⁽¹¹⁾. Clasificamos los resultados cualitativamente según la abundancia de los metabolitos: abundante (+++), regular (++) , poco (+) o ausente (-).

Cromatografía en capa fina

Se realizó la cromatografía en capa fina (CCF) del extracto metanólico; para ello se sembró la muestra en la cromatoplaqueta de silicagel 60-G y se utilizó el sistema de solventes cloroformo: metanol (2:1). Seguidamente, se reveló la cromatoplaqueta mediante lámpara de luz UV de 254 nm y 365 nm⁽¹¹⁾.

Cromatografía con estándares

Se utilizaron como estándares: rutina, quercetina, hesperidina y ácido gálico bajo el sistema de solventes cloroformo: metanol (2:1). Posteriormente, se reveló la cromatoplaqueta mediante lámpara de luz UV de 254 nm y 365 nm⁽¹¹⁾.

Cromatografía con reveladores cromogénicos

Se utilizaron tricloruro férrico (FeCl_3) y Dragendorff como reveladores cromatográficos para determinar la presencia de compuestos fenólicos y alcaloides, respectivamente. La cromatoplaqueta se desarrolló bajo el sistema de solventes cloroformo:metanol (2:1)⁽¹¹⁾.

Determinación de estructuras químicas

Las fracciones obtenidas mediante cromatografía en capa fina (CCF) fueron analizadas con un espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific GENESYS 10S. Las lecturas espectrales fueron realizadas en un rango de 200 a 400 nm. Para la caracterización química, empleamos reactivos de desplazamiento como metóxido de sodio, AlCl_3 y HCl al 50%, siguiendo la metodología de Lock⁽¹¹⁾. Los espectros obtenidos fueron comparados con los espectros publicados por Mabry *et al.*⁽¹²⁾ para identificar las estructuras de flavonoides presentes.

Actividad antimicrobiana

Evaluamos la actividad antimicrobiana del extracto metanólico frente a cepas de referencia internacional de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, adquiridas del Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología

«Marco Antonio Garrido Malo». Las cepas fueron mantenidas a 4 °C y reactivadas 24 horas antes del ensayo, se cultivaron en Agar Trypticasa Soya (Merck) a 37 °C⁽¹³⁾.

El extracto seco fue disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO) al 5 % para preparar soluciones a concentraciones de 50, 75 y 100 mg/mL⁽¹³⁾. Determinamos la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar en pozo, según Kumar *et al.*⁽¹⁴⁾. Los inóculos bacterianos fueron preparados ajustando la turbidez a 0,5 en la escala de McFarland, equivalente a una concentración aproximada de $1-1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Inoculamos las placas de Agar Müller Hinton con las bacterias, y realizamos pozos de 9 mm de diámetro en cada placa. Añadimos 100 μL de cada concentración del extracto en los pozos y las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas. Se midieron los halos de inhibición en milímetros y clasificamos la sensibilidad del microorganismo con la escala de Duraffourd⁽¹⁵⁾: no sensibles (< 8 mm), sensibles (9- 20 mm) y sumamente sensibles (> 20 mm). Los análisis se realizaron por duplicado.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó en el programa IBM SPSS Statistics versión 25.0 para calcular el promedio y la desviación estándar de los diámetros de inhibición en relación con las diferentes concentraciones de la muestra aplicadas a las distintas cepas bacterianas. Se tomó en cuenta la desviación estándar para estimar con mayor precisión la dispersión de los datos obtenidos.

Aspectos éticos

Se realizó un estudio *in vitro*, no fueron incluidos seres humanos ni animales.

RESULTADOS

Solubilidad

El extracto presentó alta solubilidad en metanol, etanol, butanol y acetato de etilo, lo que dio lugar a soluciones completamente transparentes. Por otro lado, se observó baja solubilidad en cloroformo, diclorometano, tolueno, benceno y agua, donde las soluciones resultaron opacas y con presencia de sedimentación.

Tamizaje fitoquímico

La marcha fitoquímica permitió detectar la presencia de gran cantidad de

metabolitos secundarios entre los cuales se encuentran compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, triterpenoides y esteroides, lactonas, cumarinas, entre otros (Tabla 1).

Cromatografía

Al realizar la CCF del extracto, se visualizó la separación de los compuestos del extracto evidenciando un total de 14 fracciones y a longitudes de onda de 365 y 254 nm, respectivamente (Figuras 2A, 2B).

Cromatografía con estándares

Al realizar la CCF del extracto junto a los estándares, se observó que las coloraciones y distancias recorridas por los estándares son similares a ciertas fracciones del extracto (Figuras 2C, 2D).

Cromatografía con reveladores cromogénicos

La CCF del extracto reveló resultados distintivos tras la aplicación de los reactivos cromogénicos FeCl_3 y Dragendorff (Figura 2E). El FeCl_3 produjo una coloración verde, indicando la presencia de compuestos fenólicos. En cambio, el reactivo de Dragendorff generó una coloración anaranjada, sugiriendo la presencia de alcaloides.

Determinación de estructuras químicas

Identificamos 14 analitos en el extracto, de las cuáles cinco fracciones (F8, F11, F12, F13, F14) corresponden a estructuras tipo flavonoides detectadas mediante espectroscopia UV/Vis y reactivos de desplazamiento (Figura 3).

Actividad antimicrobiana

El extracto metanólico a una concentración de 50 mg/mL frente *Bacillus subtilis* presentó una sensibilidad de 20,5 mm clasificándose como sumamente sensible, mientras que a 75 mg/mL y 100 mg/mL el tamaño de halo fue de 21 mm y 21,5 mm (sumamente sensible). Para *Pseudomonas aeruginosa* encontramos que todas las concentraciones tuvieron actividad antimicrobiana con un grado de inhibición considerable, manteniendo un tamaño de halo entre 21 mm y 21,5 mm (sumamente sensible). En el caso de *Staphylococcus aureus* la concentración de 100 mg/mL mostró mejor actividad antimicrobiana con un halo de inhibición de 25 mm, seguidas de las concentraciones

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray.

Metabolito	Reactivo	Resultado
Carbohidratos	Molisch	+++
	Fehling	+++
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	+++
Taninos	Gelatina	+++
Flavonoides	Shinoda	+++
Aminoácidos libres y grupos amino	Ninhidrina	-
	Dragendorff	+++
Alcaloides	Mayer	+++
	Bouchardat	+++
	Popoff	+++
Naftaquinonas, antraquinonas y antronas	Borntrager	+++
Triterpenoides y esteroides	Lieberman- Burchard	+++
	Baljet	+++
Glicósidas	Vainillín clorhídrico	+++
Lactonas	Legal	+++
Azúcares reductores	Barfoed	+++
	Benedict	+++
Proteínas	Biuret	-
Cumarinas	NH ₄ OH _(c)	+++
Cetosas	Seliwanoff	+++
Saponinas	Índice afrosimétrico	+++

Abundante (+++); regular (++); poco (+); ausente (-)

nes de 75 mg/mL y 50 mg/mL con una zona de inhibición de 22,5 mm y 20 mm, respectivamente. Finalmente, frente a *Escherichia coli* todas las concentraciones fueron sumamente sensibles y la concentración más efectiva es 100 mg/L con un halo de inhibición de 24,5 mm de diámetro ⁽¹⁶⁾ (Tabla 2).

El control positivo, ciprofloxacino 0,05 mg/mL, mantuvo una zona de inhibición de 52,3 ± 1,1 mm, 34 mm y 39 mm contra *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* respectivamente (sumamente sensible). Frente a *Escherichia coli* mostró una zona de inhibición de 15 mm, clasificándose como muy sensible ⁽¹⁶⁾ (Figura 4).

DISCUSIÓN

El presente estudio ha demostrado que el extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray posee distintos metabolitos secundarios, principalmente los

flavonoides. Dentro de estos caracterizamos 5 estructuras químicas, encontrándose 4 flavonas y 1 aurona. De las cuales, 3 estructuras (F11, F12 y 14) no presentaron previos reportes respecto a su actividad biológica a la fecha de realización de este artículo.

El extracto presentó solubilidad en solventes de mediana polaridad disminuyendo más su solubilidad en solventes apolares y muy polares. En línea con estos resultados, el estudio de Linares ⁽¹⁷⁾ trabajó sobre la misma especie, pero utilizando etanol y obteniendo resultados similares (soluble en etanol, metanol) y además en agua, lo que podría estar relacionado al uso de un solvente de menor polaridad. Paralelamente, en ambos estudios se observó que los compuestos bioactivos son más afines a solventes de mediana polaridad.

Los resultados del tamizaje fitoquímico de *Luma chequen* revelan un perfil similar a lo encontrado en el estudio de Tambe *et*

al. ⁽¹⁸⁾ donde el extracto metanólico *Syzygium cumini* (Myrtaceae) contuvo flavonoides, compuestos fenólicos, taninos y alcaloides, siendo estos metabolitos comunes entre las especies de Myrtaceae. Adicionalmente, nuestro estudio reporta alcaloides, triterpenoides esteroides, lactonas, cumarinas, entre otros.

En el desarrollo de la CCF se utilizaron como estándares a la rutina, quercetina, hesperidina y ácido gálico, y el extracto mostró presencia de todos ellos. Ello es comparable al estudio de De Souza *et al.* ⁽¹⁹⁾ que trabajaron con una especie de la misma familia Myrtaceae, y que mediante CCF encontraron bandas de quercetina, catequina y ácido cafeico. Lo resaltante en el trabajo de De Souza *et al.* ⁽¹⁹⁾ y el presente estudio, es la evidencia del metabolito de quercetina, utilizando un sistema de solventes de naturaleza apolar. Por otra parte, una diferencia importante es que en nuestro estudio se identificó al ácido gálico, siendo ambos metabolitos comunes en la familia Myrtaceae ⁽²⁰⁾.

Durante el ensayo de espectrofotometría con reactivos de desplazamiento se encontraron 5 fracciones correspondientes a flavonoides. Las fracciones F8, F11, F12 y F13 corresponden a un esqueleto básico de flavona, y F14 a uno de aurona. Todas las fracciones al ser tratadas con CH₃NaO no tuvieron efecto batocrómico en la banda II y en la banda I, sugiriendo que el grupo hidroxilo libre no está presente en la posición 4' y 7 para los productos aislados en las fracciones F8, F11, F12 y F13; del mismo modo, en la posición 4' y 6 de la F14. Tras la adición de AlCl₃ a la solución etanólica del extracto no se observó efecto batocrómico en ambas bandas en ninguna fracción, lo cual evidencia la ausencia de un hidroxilo libre en la posición 5 para los compuestos en las fracciones F8, F11, F12 y F13; al igual que la posición 4 en F14. Concluyendo que no se formaría un complejo con el AlCl₃ entre el OCH₃ en 5 y el grupo carbonilo. La banda I no sufrió ninguna modificación lo que demuestra la ausencia de OH libres en posición orto o adyacentes. Al ser tratado con HCl al 50 %, se mantuvieron las señales, lo que nos confirma la ausencia de complejos ⁽⁹⁾.

Los flavonoides juegan un rol importante en los mecanismos de defensa de las plantas contra microorganismos,

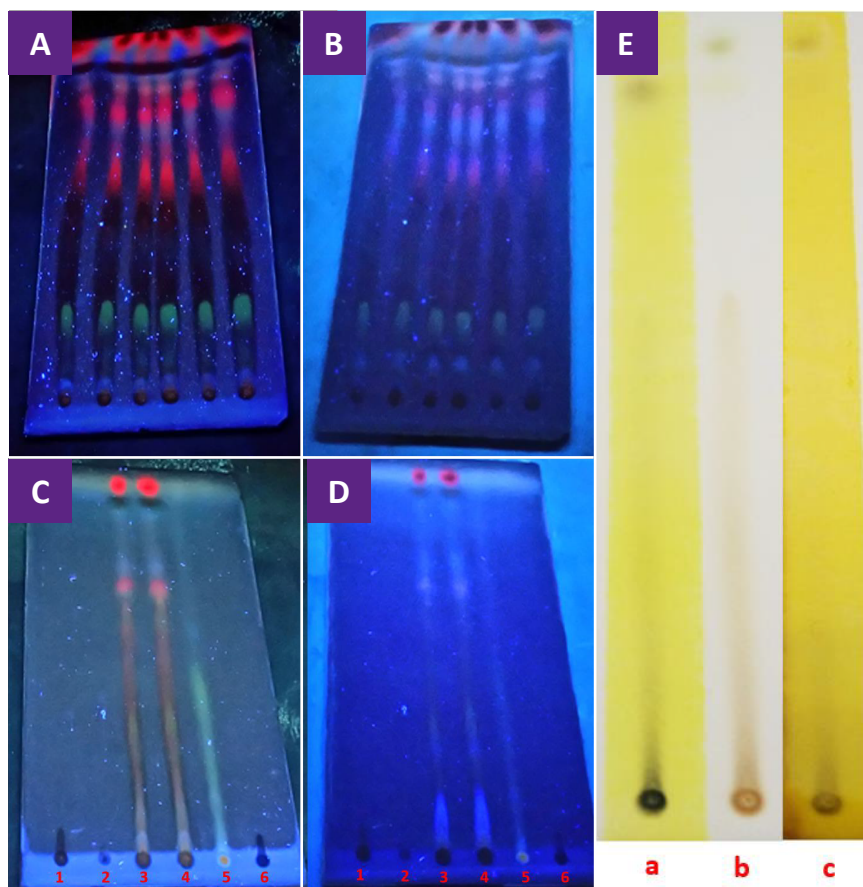


Figura 2. Resultados de cromatografía en capa fina (CCF) del extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray. **A.** Luz UV 365 nm. **B.** Luz UV 254 nm. **C.** Luz UV 365 nm con estándares (*). **D.** Luz UV 254 nm con estándares (*). **E.** Resultados con reveladores cromogénicos a luz visible (**). *Estándares: 1) Rutina. 2) Quercetina. 3) Extracto. 4) Extracto. 5) Hesperidina. 6) Ácido gálico. **Reveladores: a) FeCl₃, b) Extracto. c) Dragendorff.

estos son sintetizados por sus efectos antimicrobianos ⁽²¹⁾. Las fracciones de flavonoides que encontramos en el presente estudio tienen actividades biológicas previamente reportadas como la fracción F8 con efecto sedante-hipnótico evaluado en ratones ⁽²²⁾ y la fracción F13

ha sido reportada con actividad vasorrelajante e hipotensora ⁽²³⁾. Otras fracciones como F11, F12 y F14 presentaron reportes relacionados a su tipo de flavonoide. Las fracciones F11 y F12, flavonas polimetoxiladas, han demostrado un amplio espectro de acción antimicrobiana ⁽²⁴⁾.

La fracción F14, una aurona, también ha mostrado propiedades antimicrobianas y antifúngicas ⁽²⁵⁾.

El extracto de *Luma chequen* (Molina) A. Gray contiene componentes activos con una amplia gama de acción antimicrobiana, se encontró que el extracto etanólico de la planta mostró una mayor actividad inhibitoria contra los patógenos *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *Klebsiella pneumoniae* con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 3,125 mg/mL, y *Candida tropicalis* y *C. parapsilosis* con una CMI de 1,56 mg/mL ⁽⁹⁾. Otros reportes señalan que el aceite esencial de *Luma chequen*, obtenido por destilación por arrastre de vapor, muestra actividad antimicrobiana con concentraciones mínimas inhibitorias de 8 % (v/v) para *E. coli* y 5 % (v/v) para *S. aureus*, *S. epidermidis* y *C. albicans*. cuyas concentraciones mínimas bactericidas o fungicidas son 10 % (v/v) para *E. coli* y 5 % (v/v) para *C. albicans* ⁽²⁶⁾.

La actividad antimicrobiana contra *S. aureus* concuerda con los resultados del presente estudio; esto es de especial interés, ya que es un patógeno responsable de una variedad de enfermedades hospitalarias ⁽²⁷⁾. En la actualidad se considera un reto el tratamiento de este microorganismo debido a la resistencia de las nuevas cepas; no obstante, se ha demostrado que las chalconas, flavanonas y flavonas tienen potencial antimicrobiano contra *S. aureus* debido a sus características estructurales y coplanaridad molecular ⁽²⁸⁾. La presencia de los grupos hidroxilo en las flavonas podrían encontrarse correlacionados con la actividad antimicrobiana que presentan los extractos naturales, ya que existe una rela-

Tabla 2. Zona de inhibición del extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray sobre *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Microorganismo	Media (desviación estándar) del diámetro de halos de inhibición (mm)			
	Extracto			Control positivo Ciprofloxacino [0,05 mg/mL]
	50 mg/mL	75 mg/mL	100 mg/mL	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	20,5 (0,7)	21,0	21,5 (0,7)	52,3 (1,1)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	21,0	21,5 (0,7)	21,0	34,0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20,0	22,5 (0,7)	25,0	39,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	21 (1,4)	23,0	24,5 (0,7)	15,0

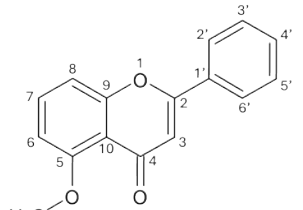
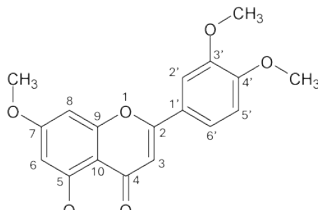
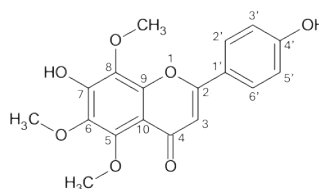
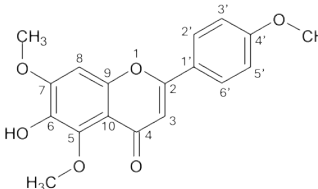
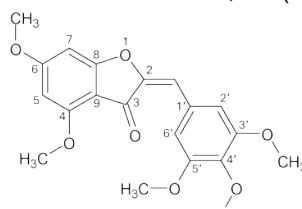
<p>Fracción 8. (F8) Lecturas en el espectro UV-Visible</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 265, 323 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + Metox. Na}$: 265, 324 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3}$: 264, 323 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3 + HCl}$: 264, 323 nm</p>  <p>A. 5-metoxiflavona</p>	<p>Fracción 11. (F11) Lecturas en el espectro UV-Visible</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 267, 338 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + Metox. Na}$: 265, 338 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3}$: 267, 338 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3 + HCl}$: 266, 339 nm</p>  <p>B. 3',4',5,7-tetrametoxiflavona</p>
<p>Fracción 12. (F12) Lecturas en el espectro UV-Visible</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 287, 327 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + Metox. Na}$: 328, 368 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3}$: 287, 327 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3 + HCl}$: 287, 327 nm</p>  <p>C. 4',7-dihidroxi-5,6,8-trimetoxiflavona</p>	<p>Fracción 13. (F13) Lecturas en el espectro UV-Visible</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 270, 325 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + Metox. Na}$: 270, 327 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3}$: 272, 325 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3 + HCl}$: 272, 325 nm</p>  <p>D. 6-hidroxi-4',5,7-trimetoxiflavona</p>
<p>Fracción 14. (F14) Lecturas en el espectro UV-Visible</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 268, 419 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + Metox. Na}$: 268, 418 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3}$: 268, 418 nm</p> <p>$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3 + HCl}$: 268, 354(h), 418 nm</p>  <p>E. 3',4',5',4,6-pentametoxiaurona</p>	

Figura 3. Análisis estructural de estructuras de flavonoides encontradas en el extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray. **A.** 5-metoxiflavona. **B.** 3',4',5,7-tetrametoxiflavona. **C.** 4',7-dihidroxi-5,6,8-trimetoxiflavona. **D.** 6-hidroxi-4',5,7-trimetoxiflavona. **E.** 3',4',5',4,6-pentametoxiaurona.

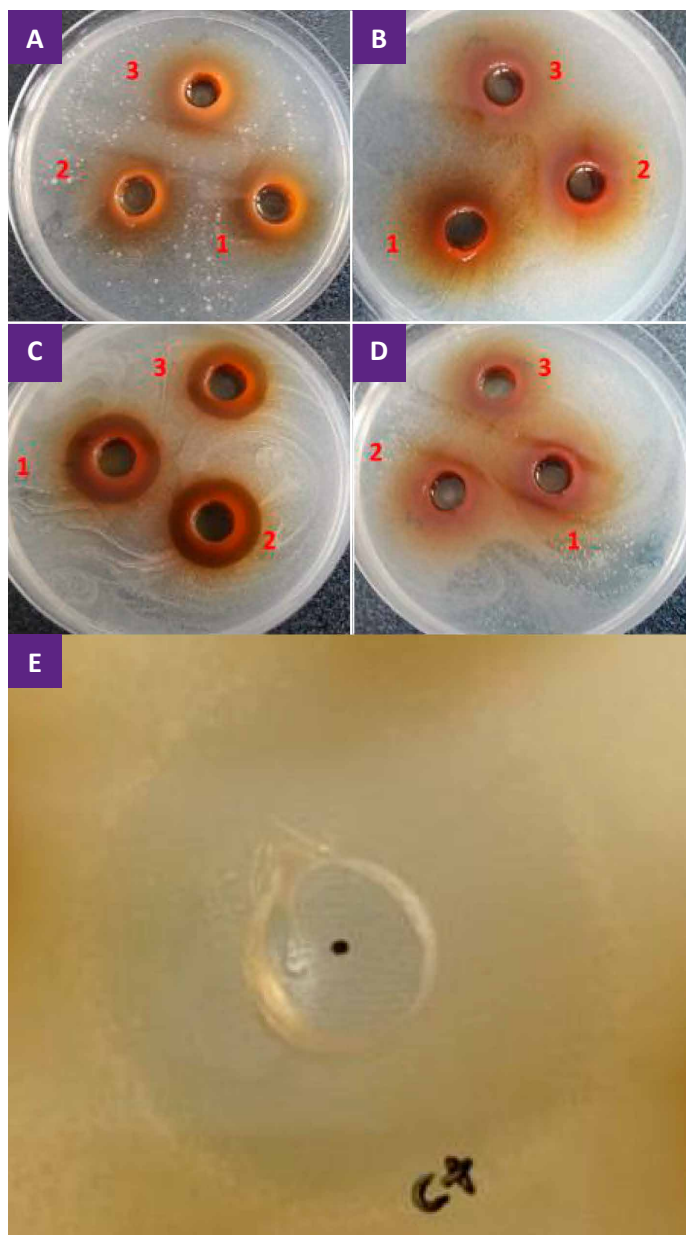


Figura 4. Actividad antimicrobiana del extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray frente a los distintos microorganismos:

A. *Bacillus subtilis*. **B.** *Pseudomonas aeruginosa*. **C.** *Staphylococcus aureus*. **D.** *Escherichia coli*. **E.** Actividad antimicrobiana del control positivo de ciprofloxacino frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

1) Extracto 100 mg/mL; 2) Extracto 75 mg/mL; 3) Extracto 50 mg/mL.

ción directamente proporcional entre la cantidad de grupos OH y el efecto obtenido⁽²⁹⁾. Por lo tanto, se podría mencionar que las flavonas determinadas en el presente estudio podrían ser las responsables de esta actividad antimicrobiana contra esta cepa y dentro de ellas la estructura F12 al presentar la mayor cantidad de grupos hidroxilos

en su estructura, resultaría ser la molécula responsable de dicha actividad.

De igual forma para *Bacillus subtilis*, Liu *et al.*⁽³⁰⁾ reportó que los derivados de flavona tuvieron efecto antimicrobiano sobre esta cepa y otras de naturaleza gram positiva, por lo cual se podría atribuir esta actividad a las

fracciones F8, F11 y F13. Asimismo, la actividad antimicrobiana que presenta frente a *Pseudomonas aeruginosa* es sumamente sensible y resulta ser de relevancia clínica. Paczkowski *et al.*⁽³¹⁾ indicaron que el contenido de flavonoides inhibe los receptores QS, los cuales se relacionan con la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*; además señaló que las fracciones dihidroxilo (dihidroxi flavonoides) ubicadas en el esqueleto del anillo A de la flavona muestran mejores efectos antimicrobianos. Yin *et al.*⁽³²⁾ mencionaron que los derivados de prenil flavonas con la presencia de dos grupos hidroxilo (semejante en nuestro estudio a la fracción F12) producen compuestos antibacterianos más activos, adicionalmente el sustituyente metoxi en la posición 7 potencia esta actividad, por lo que podría ser la molécula responsable de la inhibición de esta bacteria.

La actividad antimicrobiana que presenta frente a *Escherichia coli* es considerable debido a la sensibilidad que presenta. Shamsudin *et al.*⁽³³⁾ menciona que los flavonoides pueden inhibir el ADN girasa de *Escherichia coli* y, por ende, influye en su replicación. Los sustituyentes principales que contribuyen a la actividad antimicrobiana es 4'-OH en el anillo B de la flavona, mientras que el 3'-OCH₃ en el anillo B, 5-OCH₃ en el anillo A, 4'-OCH₃ en el anillo B y 7-OH en el anillo A de la flavona pueden reducir el efecto inhibitorio por la bacteria. La F12 contiene un grupo hidroxilo en la posición 4' del anillo B, por lo cual, podría tener actividad antimicrobiana contra este microorganismo, con un efecto mayor que el ciprofloxacino (control positivo).

Olleik *et al.*⁽³⁴⁾ reportó que los flavonoides de tipo auronas ejercen propiedades antibacterianas contra *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris*. La F14 podría ser uno de los metabolitos responsables de la actividad antimicrobiana frente a las bacterias gram positivas y gram negativas en el presente estudio. Los mejores resultados fueron obtenidos frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia*

coli, lo cual concuerda con lo reportado por Torres⁽³⁵⁾, donde el extracto etanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray fue capaz de inhibir a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y presentó una zona de inhibición de 29 mm; seguido de *Escherichia coli* ATCC 25922 con diámetro de inhibición de 25 mm.

Entre las limitaciones del estudio, no se tuvo acceso a nuevas metodologías de espectrofotometría con las cuales se podrían llegar a una elucidación de los flavonoides mencionados. Asimismo, el estudio se limitó a trabajar con el extracto total de hojas de *Luma chequen* sin desarrollar ensayos antimicrobianos de cada una de las fracciones de flavonoides caracterizados conllevando a la falta de evaluación de la relación estructura-actividad. A pesar de estas limitaciones, los hallazgos ofrecen datos sobre el potencial antimicrobiano de *Luma chequen* (Molina) A. Gray y contribuyen a una mejor comprensión de su actividad al caracterizar algunos de sus principales componentes.

En conclusión, el extracto metanólico de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray presentó diferentes metabolitos secundarios detectados mediante tamizaje y cromatografía en capa fina con reveladores y estándares. Se caracterizó mediante espectrofotometría UV-visible y reactivos de desplazamiento cinco estructuras de flavonoides, entre ellas cuatro flavonas y una aurona: 5-metoxiflavona; 3',4',5,7-tetrametoxiflavona; 4',7-dihidroxi-5,6,8-trimetoxiflavona; 6-hidroxi-4',5,7-trimetoxiflavona y 3',4',5',6-pentametoxiaurona. Asimismo, el extracto presentó actividad antimicrobiana frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* a una concentración de 50 mg/mL, 75 mg/mL y 100 mg/mL.

AGRADECIMIENTOS

A Daniella Alexandra Miranda Loredo, Dara Edith Curioso Melo, Analucía Toche Tuesta, Lorena Victoria Ruiz Bendayan y Kelianda Rocío Flores Cunyas por su colaboración en la realización del proyecto de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fernandez LA. Principios activos del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "Arrayán" y evaluación de su actividad antibacteriana [tesis doctoral]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2019.
- Alvarado-García PAA, Soto-Vásquez MR, Rosales-Cerquin LE, Jara-Aguilar DR, M. Benites S. Anxiolytic-like effect of *Luma chequen* essential oil: A pilot study. *Pharmacogn J.* 2021;13(6s):1607–13. DOI: 10.5530/pj.2021.13.207
- Borja-Málaga ME, Jiménez-Ochoa A, Medina de Miranda E, Escobedo-Vargas FA. Effect of drying on the extraction yield of *Luma chequen* (Molina) A. Gray essential oil. *Rev Mex Ing Quim.* 2022;21(2):1–21. DOI: 10.24275/rmiq/Proc2623
- Díaz-Urbe JL, Salazar-Salvatierra ME, Ruiz-Quiroz JR, Herrera-Calderon O, Loyola-Gonzales E, Tataje-Napuri FE, et al. Phytochemical Profile, Antioxidant and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Luma chequen* (Molina) A. Gray from Peru. *Pharmacogn J.* 2023;15(5): 777-780. DOI: 10.5530/pj.2023.15.151
- Velásquez P, Orellana J, Muñoz-Carvajal E, Faúndez M, Gómez M, Montenegro G, et al. Biological activity of native Myrtaceae fruits from Chile as a potential functional food. *Natural Product Research [Internet].* 2022;36(12):3138–42. DOI: 10.1080/14786419.2021.1940176
- Organización Panamericana de la Salud. La resistencia antimicrobiana pone en riesgo la salud mundial [Internet]. OPS; 2021 [Fecha de acceso: 20 de Diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/3-3-2021-resistencia-antimicrobiana-pone-riesgo-salud-mundial>
- Organización mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos [Internet] OMS; 2020 [Fecha de acceso: 16 de Enero 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Al Sheikh HMA, Sultan I, Kumar V, Rather IA, Al-Sheikh H, Tasleem Jan A, et al. Plant-based phytochemicals as possible alternative to antibiotics in combating bacterial drug resistance. *Antibiotics.* 2020;9(8):480. DOI: 10.3390/antibiotics9080480.
- Torres-Chatí J, León-Quispe J, Tomas-Chota G. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray arrayán frente a patógenos de origen clínico. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* [Internet]. 2017 [Fecha de acceso: 23 de Diciembre 2023];37(1):10-16. Disponible en: https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1315-25562017000100004&script=sci_abstract
- Llerena L, Yucra J. Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray (arrayán) sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Universidad Católica de Santa María. [Tesis de título]. Arequipa: Universidad Católica De Santa María; 2017.
- Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994. 98-102 pp.
- Mabry T. The Systematic Identification of Flavonoids. New York: Springer. 1970
- Yahia Y, Benabderrahim MA, Tlili N, Bagues M, Nagaz K. Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from different plant parts of two *Ziziphus* Mill. species. *PLOS ONE.* 2020; 15(5): e0232599. DOI: 10.1371/journal.pone.0232599
- Kumar P, Fuloria S, Alam S, Vanitha M, Kumar V, Kumar N, et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Oleoresin of Capsicum annum Fruits. *Mindanao Journal of Science and Technology.* 2021; 19(1): 29-34. DOI: 10.61310/mncjstecbe.1030.21
- Checalla-Collatupa J, Sánchez-Tito M. Caracterización Química y Actividad Antibacteriana in vitro de un Extracto Etanólico de Propóleo Peruano Frente a *Streptococcus mutans*. *Int. J. Odontostomat.* 2021; 15(1): 145-151. DOI: 10.4067/S0718-381X2021000100145.
- Morillo J, Ibarra C. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* sobre cepas de *Porphyromona Gingivalis*. Estudio in vitro. [Internet]. 2018 [Fecha de acceso: 27 de Diciembre 2023];20(2): 5-13. Disponible en: <https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/1470>
- Linares D. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray mediante el método de edema subplantar en ratas [Tesis de Título Profesional]. Lima, Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Norbert Wiener; 2019.77 pp.
- Tambe BD, Pedhekar P, Harshali P. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Syzygium cumini* (L.) (Myrtaceae) Leaves Extracts. *Asian J Pharm Res Dev.* 2021; 9(5), 50–54. DOI: 10.22270/ajprd.v9i5.1023
- De Souza JA, da Silva WS, Bezerra IC, Ferreira MR, Soares LA. Chemical profiles by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography of plant species from Northeast Brazil. *Pharmacogn Mag.* 2018;14(56):437-443. DOI: 10.4103/pm.pm_225_17
- De Paulo D, Neri-Numa I, Fernandes de Araújo F, Maria G. A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. *Food Chem.* 2020;306: 125630. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125630
- Al-Omar MS, Mohammed HA, Mohammed SAA, et al. Anti-Microbial, Anti-Oxidant, and α -Amylase Inhibitory Activity of Traditionally-Used Medicinal Herbs: A Comparative Analyses of Pharmacology, and Phytoconstituents of Regional Halophytic Plants' Diaspora. *Molecules.* 2020;25(22):5457. Published 2020 Nov 20. doi:10.3390/molecules25225457
- Shanmugasundaram J, Subramanian V, Nadi-pelly JS, Kathirvelu P, Sayeli V, Cheriyan BV. Sedative-hypnotic like effect of 5-methoxyflavone in mice and investigation on possible mechanisms by in vivo and in silico methods. *Biomed. Pharmacother.* 2018;108(1):85–94. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.08.117
- Tinco A, Arroyo J, Bonilla P. Efecto del extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg., en la disfunción eréctil inducida en ratas. *An. Fac. med.* 2011; 72(3):161-168. DOI: 10.15381/anales.v72i3.1061
- Leonte D, Ungureanu D, Zaharia V. Flavones and Related Compounds: Synthesis and Biological Activity. *Molecules.* 2023; 28(18):6528. <https://doi.org/10.3390/molecules28186528>
- Mazziotti I, Petrarolo G, La Motta C. Aurones: A Golden Resource for Active Compounds. *Mol-*

- ecules. 2022; 27(1):2. <https://doi.org/10.3390/molecules27010002>
26. Llerena L, Yucre J. Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray (arrayán) sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Universidad Católica de Santa María. [Tesis de grado]. Arequipa: Universidad Católica De Santa María; 2017.
 27. Taylor TA, Unakal CG. *Staphylococcus aureus* Infection. [Updated 2023 Nov 17]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. [Internet]. 2024 [Fecha de acceso: 27 de Diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
 28. Alcaráz L, Blanco S, Puig O, Tomás F, Ferretti F. Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Theoretical Biology*. 2000;205(2):231–240. DOI: 10.1006/jtbi.2000.2062
 29. Zheng W, Tan R, Yang L, Liu Z. Two flavones from *Artemisia giraldii* and their antimicrobial activity. *Planta Med*. 1996;62(2):160-162. DOI: 10.1055/s-2006-957841
 30. Liu R, Zhao B, Wang D, Yao T, Pang L, Tu Q, et al. Nitrogen-containing apigenin analogs: preparation and biological activity. *Molecules*. 2012;17(12):14748–14764. DOI: 10.3390/molecules171214748
 31. Paczkowski J, Mukherjee S, McCready A, Cong J, Aquino C, Kim H, et al. Flavonoids suppress *Pseudomonas aeruginosa* virulence through allosteric inhibition of quorum-sensing receptors. *J. Biol. Chem*. 2017;292(10):4064–4076. DOI: 10.1074/jbc.m116.770552
 32. Yin S, Fan C, Wang Y, Dong L, Yue J. Antibacterial prenylflavone derivatives from *Psoralea corylifolia*, and their structure-activity relationship study. *Bioorg. Med. Chem*. 2004;12(16):4387–4392. DOI: 10.1016/j.bmc.2004.06.014
 33. Shamsudin N, Ahmed Q, Mahmood S, Ali Shah S, Khatib A, Mukhtar S, et al. Antibacterial effects of flavonoids and their structure-activity relationship study: A comparative interpretation. *Molecules*. 2022; 27(4):1149. DOI: 10.3390/molecules27041149
 34. Olleik H, Yahiaoui S, Roulier B, Courvoisier-Dezord E, Perrier J, Pérès B, et al. Aurone derivatives as promising antibacterial agents against resistant Gram-positive pathogens. *Eur. J. Med. Chem*. 2019;165: 133–141. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.01.022
 35. Torres CJ. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. Gray 'arrayán' frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima - Perú [Tesis de Título Profesional]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014:80 pp.