

●●● Fitoquímica



●●● Fitoquímica

Presentaciones Orales



LOS ALCALOIDES DE LAS AMARYLLIDACEAE: QUÍMICA Y APLICACIONES FARMACOLÓGICAS

Jaume Bastida

PhD, Departamento de Productos Naturales, Biología Vegetal y Edafología, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, 08028 Barcelona, Catalunya, España

Las plantas de la familia Amaryllidaceae están siendo objeto de un intenso proceso de examen debido a la presencia de una serie de metabolitos secundarios específicos y exclusivos de esta familia, responsables de sus propiedades biológicas y farmacológicas. El primer alcaloide aislado de esta familia fue licorina, obtenida de *Narcissus pseudonarcissus* en 1877 y desde entonces se han aislado alrededor de 400 alcaloides más.

Nuestro estudio se inició con el género *Narcissus*, que se distribuye en los países del área mediterránea. Podemos remarcar que este género biosintetiza preferentemente alcaloides de las series licorina y homolicorina, pero debemos hacer una especial mención del elevado contenido en galantamina de una de las especies estudiadas, *Narcissus confusus*. Este alcaloide inhibe la enzima acetilcolinesterasa y es utilizado en la actualidad para el tratamiento paliativo de la enfermedad de Alzheimer (Reminyl®). Posteriormente se estudiaron varias especies de esta familia de origen sudafricano utilizadas en Medicina Tradicional. Sudáfrica e Iberoamérica son los principales centros de diversificación de la familia Amaryllidaceae. Es de remarcar que en las especies sudafricanas predominan los alcaloides del tipo crinano, con el puente etano en beta, ausentes en las especies del género *Narcissus*. En la actualidad estamos focalizados en encontrar nuevas fuentes de galantamina, habida cuenta de que, a pesar de haberse completado su síntesis, el producto natural extraído de *Leucojum aestivum* es el que sigue siendo utilizado preferente-mente para la fabricación de las especialidades farmacéuticas.

Desde el punto de vista terapéutico, últimos estudios realizados acerca de la actividad de estos alcaloides nos indican una actividad apoptótica muy selectiva frente a células tumorales de los alcaloides de la serie hemantamina, con el puente etano en alfa.

Actualmente estamos desarrollando estudios de docking de estos compuestos para predecir su actividad inhibidora frente a determinadas enzimas, lo cual evita en buena medida el aislamiento de compuestos inactivos, disminuyendo los costos y el consumo de tiempo.



UTILIZACIÓN DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS PARA EL ESTUDIO DE LOS ALCALOIDES DE *Narcissus broussonetii*

Jean Paulo de Andrade

Profesor Invitado, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica

Plants of the Amaryllidaceae family are a well-known source of tetrahydroisoquinoline alkaloids with a wide range of biological activities, including antiviral, antitumoral, antiparasitic, psychopharmacological, and acetylcholinesterase inhibitory, among others. Recent advances in the use of GC or LC coupled to MS have allowed a chemically guided isolation of uncommon and bioactive alkaloids. In the present work, analytical methods were applied to study the alkaloid profile of *Narcissus broussonetii*, a plant endemic to North Africa. Using the GC-MS technique and an in-home mass fragmentation database, twenty-three alkaloids were identified, including the very rare dinitrogenous alkaloids obliquine, plicamine, and secoplicamine. Applying LC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS, fragmentation profiles were found to be similar for obliquine and plicamine but different for secoplicamine. Pretazettine, a potent cytotoxic alkaloid, was also isolated from *N. broussonetii*, although its identification by GC-MS was only possible after a BSTFA-derivatization. The silylated crude methanolic extract only showed the presence of pretazettine-TMS, confirming that tazettine was formed after the alkaloid extraction. The same observation was made in *Narcissus* cultivars in which tazettine had been detected as the major alkaloid. As part of an ongoing project on MS of Amaryllidaceae alkaloids, the silylated tazettine and pretazettine were studied by GC-MS/MS, and found to differ in their fragmentation routes. Finally, the EtOAc extract of *N. broussonetii* showed notable *in vitro* activity against *Trypanosoma cruzi*, with an IC_{50} value of 1.77 $\mu\text{g/ml}$.



DISPERSIVE LIQUID LIQUID MICROEXTRACTION COUPLED TO HIGH PRESSURE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC) AND ULTRAVIOLET DIODE ARRAY DETECTION (UV-DAD) FOR THE ANALYSIS OF PHENOLIC COMPOUNDS IN HONEY

Luca Campone¹, Sonia Carabetta², Imma Pagano¹, Anna Lisa Piccinelli¹, Luca Rastrelli¹, Maria Teresa Russo²

1. Dipartimento di Farmacia, Università di Salerno, via Giovanni Paolo II, Fisciano (SA), Italy

2. Dipartimento di Agraria, Università Mediterranea di Reggio Calabria, Italy

A novel approach for the rapid analysis of phenolic compounds in honey samples based on dispersive liquid liquid microextraction (DLLME) is presented. Generally, the analysis of phenolic compounds in honey involves the elimination of matrix components, mainly sugars, and the preconcentration of analytes before the determination, which is carried out most often by HPLC coupled with different detectors [1, 2]. Liquid-liquid extraction (LLE) with organic solvents and solid phase extraction (SPE) are very often used to extract phenolic compounds from honey [1, 2]. SPE on Amberlite XAD-2 followed by LLE with diethyl ether [3] is the most popular technique applied, but the use of C18 sorbents in SPE clean-up has also been reported [4-5]. These methods are laborious time consuming and use large amounts of organic solvent. The availability of fast, and inexpensive analytical procedures for the determination of phenolic compounds in honey is highly demanded for the quality control, the nutraceutical research and the authentication and characterization of botanical origin. The aim of this research was to develop a fast and inexpensive DLLME method suitable for the determination of phenolic compounds in honey. Of the main phytochemicals reported in honey, seven phenolic acids (caffeic acid, ellagic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, protocatechuic acid, syringic acid and vanillic acid) and ten flavonoids (apigenin, chrysin, galangin, hesperetin, kaempferol, luteolin, myricetin, pinobanksin, pinocembrin and quercetin) were selected as target analytes. The main parameters affecting DLLME efficiency, such as extraction solvent and dispersant solvent, their volume, the matrix/water ratio, types and salt amount, water pH were carefully studied and optimized to achieve the best extraction efficiency. HPLC-UV was selected as detection method and HPLC-HRMS was used to characterize the compounds extracted by DLLME and to investigate the applicability of this extraction technique to other phytochemicals of honey. After the optimization, the developed analytical procedure was applied to the analysis of Calabrian honey samples of different botanical origin. Moreover, the analytical performance of the DLLME method was compared with the several methods most used in the analysis of phenolic compounds in honey. The proposed method, which is demonstrated to be quick, cheap, accurate and highly selective, was successfully applied to the analysis of typical Italian honey.

BIBLIOGRAFÍA

- A.M. Gómez-Caravaca, M. Gómez-Romero, D. Arráez-Román, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41 (2006) 1220.
- K. Pyrzynska, M. Biesaga, *Trends Anal. Chem.* 28 (2009) 893.
- F. Ferreres, F.A. Tomás-Barberán, C. Soler, C. García-Viguera, A. Ortiz, F. Tomás-Lorente, *Apidologie* 25 (1994) 21.
- A.M. Aljadi, M.Y. Kamaruddin, *Food Chem.* 85 (2004) 513.
- A. Michalkiewicz, M. Biesaga, K. Pyrzynska, *J. Chromatogr. A* 1187 (2008) 18.



EXTRACTOS FENÓLICOS DE *Uncaria tomentosa* L. (UÑA DE GATO) COSTARRICENSE: COMPOSICIÓN ESTRUCTURAL Y BIOACTIVIDAD

Navarro, M.¹; Monagas, M.²; Quesada, S.³; Murillo, R.¹; Bartolomé, B.²; Sánchez-Patán, F.²; Castro, V.¹; Zamora, W.¹; Garrido, I.²

1. Escuela de Química, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica; mnavarro@codeti.org

2. CIAL, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, CSIC, Madrid, España

3. Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

INTRODUCCIÓN

Las proantocianidinas o taninos condensados son oligómeros y polímeros de flavan-3-ol, que se encuentran entre los polifenoles más abundantes y presentan una gran diversidad estructural, atendiendo al patrón de hidroxilación del anillo B; la estereoquímica de las posiciones C2, C3 y C4 del anillo C (anillo central); el tipo de enlace interflavánico; y el grado de polimerización (DP) (Aron, 2008). Adicionalmente, los flavan-3-oles combinados con los fenilpropanoides constituyen los flavanolignanos, tal como las cinchonainas (Ia, Ib, Ic, Id), derivadas de la (-)-epicatequina (Tang, 2007). Las proantocianidinas presentan efectos potencialmente beneficiosos para la salud debido a sus propiedades antioxidantes, anti-carcinogénicas, cardioprotectoras, antimicrobianas y neuroprotectoras y, por otra parte, los flavanolignanos presentan propiedades antioxidantes superiores a algunos de sus precursores. *Uncaria tomentosa* L., conocida como uña de gato, que pertenece a la familia Rubiaceae, ha recibido interés científico que se incrementó con la comprobación de sus propiedades estimulantes del sistema inmunológico, atribuidas principalmente a su contenido en alcaloides (Steinberg, 1995). En la actualidad existe evidencia científica derivada de numerosos estudios farmacológicos que demuestran un gran rango de actividades incluyendo: anticancerígena, antimutagénica, anti-inflamatoria, antiviral, inmunomodulatoria y antioxidante, así como sus efectos a nivel del sistema cardiovascular, nervioso central y locomotor (Heitzman, 2005). Estudios recientes sugieren que los compuestos fenólicos podrían ser responsables de algunos de los efectos farmacológicos de *U. tomentosa*, aunque han recibido poca atención (Sandoval, 2002). En este contexto, la investigación se dirigió al estudio de dieciséis extractos polifenólicos de diferentes partes de *U. tomentosa* L. proveniente de diferentes regiones de Costa Rica.

METODOLOGÍA

Los extractos fueron obtenidos luego de tratamiento con solventes orgánicos de distinta polaridad, incluyendo hexano, MTBE, cloroformo y metanol, de forma a obtener fracciones ricas en polifenoles. El contenido fenólico total en mg de ácido gálico /g de extracto fue determinado por el método colorimétrico de Singleton y Rossi modificado. El contenido de proantocianidinas totales se determinó por el método de Bathe-Smith (Ribereau-Gayon) modificado, expresándose los resultados en mg de cloruro de cianidina/g de extracto. Para determinar la presencia de monómeros de flavan-3-oles, procianidinas, propelargonidinas y prodelfinidinas hasta un grado de polimerización (DP) de tres unidades (DP 3 o trímeros), y de flavanolignanos, se empleó un sistema de cromatografía líquida de ultra alta eficacia (UPLC) acoplado a un detector de fotodiodos alineados (DAD) y a un espectrómetro de masas con fuente de ionización a presión atmosférica por electronebulización y un analizador de triple cuadrupolo (UPLC-DAD-ESI-TQ MS). La separación se llevó a cabo en una columna Waters BEH C18 (2.1 x 100 mm; 1.7 mm) a 40°C. Para la cuantificación mediante el detector de masas se empleó el modo de monitorización de reacciones múltiples (multiple reaction monitoring o MRM) con las transiciones m/z adecuadas para las optimizaciones de los parámetros del detector de masas y elaboración de curvas de calibrado. La capacidad antioxidante se ha evaluó *in vitro* por el método ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno) empleando fluoresceína como sustancia fluorescente (Prior, 2005) y los resultados se expresan como mmoles de Trolox/g de extracto. Para la determinación de la citotoxicidad se empleó el método del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) y dos líneas celulares, una de células epiteliales de adenocarcinoma gástrico (AGS) y la otra de células epiteliales de adenocarcinoma colorectal (SW620), a través de la reducción metabólica del MTT realizada por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en un compuesto coloreado de color azul (formazan), determinando la funcionalidad mitocondrial de las células tratadas. Los resultados se expresan como la concentración necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular o valor IC50 (µg/mL).

RESULTADOS/DISCUSIÓN

Los extractos purificados obtenidos a partir de la planta *Uncaria tomentosa* L. costarricense, se obtuvieron en porcentajes de rendimiento de 11-21%, 2-3%, 3-11% y 2-6% para cada parte de la planta. El contenido fenólico total fue de 364.0 ± 8.0 (media \pm DE, n= 3 plantas de diferentes localidades), 373.7 ± 86.5 , 286 ± 28.6 y $115,1 \pm 47,2$ mg/g (mg ácido gálico/g extracto) para cada parte; y el contenido de proantocianidinas totales fue de 339.7 ± 109.6 (media \pm DE, n= 3 plantas de diferentes localidades), 355.3 ± 50.9 , 247 ± 24.7 y $54,9 \pm 68.6$ mg/g (mg de cloruro de cianidina/g de extracto) respectivamente.

En cuanto a la sumatoria total de compuestos fenólicos individualizados (S monómeros, dímeros de procianidinas, dímeros de propelargonidinas, trímeros de procianidinas y flavanolignanos) fue de un mínimo de 11.1, 11.9, 3.3 y 0.88 mg/g de extracto; mostrando una amplia gama de proantocianidinas presentes en diferentes partes de la planta (externas e internas) en distintas combinaciones de porcentajes de monómeros de flavan-3-ol del 15.0%, 7.5%, 11.2% y 6.0% respectivamente; de procianidinas -dímeros y trímeros formados únicamente por (+)-catequina y/o (-)-epicatequina- con un porcentaje 27.3%, 59.6%, 56.4% y 29.5% respectivamente; de propelargonidinas -conteniendo al menos una unidad de (+)-afzelequina y/o (-)-epiafzelequina- con un porcentaje de 40.5%, 20.1%, 18.8% y 4.2% respectivamente; y de flavanolignanos, en particular de (-)-epicatequina, con un porcentaje de 17.2%, 12.8%, 13.6% y 60.4% respectivamente.

En cuanto a la capacidad antioxidante, los valores de ORAC fueron de 16.1 ± 0.8 (media \pm DE, n=2 plantas de diferentes localidades), 12.2 ± 3.7 , 15.1 ± 5.2 y 3.1 ± 2.3 mmoles de Trolox/g de extracto respectivamente. La determinación de citotoxicidad en líneas de cáncer gástrico (AGS) mostró valores IC₅₀ de 116.3 ± 4.9 (media \pm DE, n=3 plantas de diferentes localidades) y 111.3 ± 3.4 para las dos partes con mayor contenido polifenólico mientras que la determinación de citotoxicidad en líneas de cáncer colónico (SW620) mostró valores IC₅₀ de 118.4 ± 12.3 (media \pm DE, n=3 plantas de diferentes localidades) y 111.3 ± 8.3 para las dos partes con mayor contenido polifenólico.

CONCLUSIÓN

Los resultados de esta investigación demostraron la riqueza y diversidad del contenido polifenólico de diferentes partes de *U. tomentosa* costarricense. La heterogeneidad estructural de los extractos mostró procianidinas, propelargonidinas y flavanolignanos, para los que se ha comprobado científicamente actividad neuroprotectora, anticancerígena, anti-inflamatoria, cardioprotectora, fitoestrogénica e insulínica. Los resultados de actividad biológica encontrados presentan interés, por ejemplo uno de los extractos comerciales con mayor capacidad antioxidante es el de la semilla de uva, cuyo valor ORAC oscila entre 2,71 - 26,4 mmol Trolox/g (Monagas, 2005). Debido a su contenido en propelargonidinas y flavanolignanos, es de esperar que estos extractos presenten propiedades diferentes, cuando no mejoradas, con respecto a los productos de otras fuentes comercializados actualmente y que contienen mayoritariamente procianidinas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aron, P. M., y Kennedy, J. A. (2008). Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52(1), 79-104.
- Heitzman, M. E., et al. (2005). Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry*, 66(1), 5-29.
- Monagas, M., et al. (2005). Quality assessment of commercial dietary antioxidant products from *Vitis vinifera* L. grape seeds. *Nutrition and Cancer*, 53(2), 244-254
- Prior, R. L., et al. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302
- Ribéreau-Gayon, P., y Stonestreet, E. (1966). Dósaage des tannins du vin rouges et détermination du leur structure. *Chem. Anal.* 48, 188-196.
- Sandoval, M., et al. (2002). Anti-inflammatory and antioxidant activities of cat's claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. *Phytomedicine*, 9(4), 325-337.
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdicphosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Steinberg, P. N. (1995). Cat's Claw: an herb from the Peruvian Amazon. *Uña de Gato: una hierba prodigiosa de la selva húmeda Peruana*. Sidahora. Apr-May: 35-6.
- Tang, W., et al. (2007) Antioxidant phenylpropanoid-substituted epicatechins from *Trichilia catigua*. *Journal of Natural Products*, 70(12), 2010-2013.



INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF ARZANOL THROUGH ITS ABILITY TO COORDINATE AND REDUCE Cu(II)

Liliana Mammino

University of Venda, Thohoyandou, South Africa

INTRODUCTION

Arzanol (C₂₂H₂₆O₇) is a naturally-occurring acylphloroglucinol with a pyrone ring attached in meta to the acyl group, through a methylene bridge, and a prenyl chain attached to the other meta position. Arzanol is the major responsible of the anti-inflammatory, anti-oxidant, antibiotic and antiviral activities of *Helichrysum italicum* [1-3]. A detailed knowledge of the molecular properties of a biologically active compound is essential for the design of derivatives with more potent activity [4]. A viable option to model antioxidant activity utilises the compound's ability to coordinate a Cu²⁺ ion and reduce it to Cu⁺ [4, 5].

METHODS

A preliminary conformational study of arzanol was carried out at the HF/6-31G(d,p) and DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) levels. Then complexes with a Cu²⁺ ion were calculated for all the conformers, considering all the sites to which Cu²⁺ might bind and including simultaneous coordination to two geometrically suitable sites. Calculations on complexes were performed at the DFT/B3LYP level, using the 6-31+G(d,p) basis set for the C, O and H atoms and the LANL2DZ pseudopotential for the Cu²⁺ ion. Frequencies calculations were added to confirm that identified minima are true minima and to evaluate ZPE corrections. Calculations in solution were performed as single point PCM calculations on the in-vacuo optimized complexes, considering chloroform, acetonitrile and water solutions. The interaction between the arzanol molecule and the Cu²⁺ ion was calculated with reference to the uncomplexed arzanol geometry closest to the geometry of arzanol in each complex.

RESULTS AND DISCUSSION

The results show preference for Cu⁺ simultaneous binding to the O of an OH ortho to the prenyl chain and the p bond in this chain, followed by simultaneous binding to the keto O of the pyrone ring and the O of the phenol OH between the acyl chain and the methylene bridge. Binding to only one site is considerably less favoured. The results are analysed in terms of the strength of the molecule-ion interaction, considering also factors like intramolecular hydrogen bonding patterns and their influence on the molecule's stability. The conformational preferences of arzanol are compared with the patterns identified for acylphloroglucinols [6]. The preferred binding sites, conformational preferences and molecule-ion interaction energies of the complexes are compared with those of other acylphloroglucinols with antioxidant properties [7].

CONCLUSIONS

The results show that the charge of the Cu²⁺ ion is reduced effectively in the complexes. This is consistent with the known antioxidant activity of arzanol and, conversely, confirms that complexes with a Cu²⁺ ion constitute a viable model for the investigation of the activity of antioxidant acylphloroglucinols.

REFERENCES

- G. Appendino, M. Ottino, N. Marquez, F. Bianchi, A. Giana, M. Ballero, O. Sterner, B. L. Fiebich, E. Munoz (2007). *J. Nat. Prod.* 70, 608-612.
- J. Bauer, A. Koeberle, F. Dehm, F. Pollastro, G. Appendino, H. Northoff, A. Rossi, L. Sautebin, O. Werz (2011). *Biochem. Pharmacol.* 81, 259-268.
- A. Rosa, F. Pollastro, A. Atzeri, G. Appendino, M. P. Melis, M. Deiana, A. Incani, D. Loru, M. A. Dessì (2011). *Chem. Phys. Lipids*, 164, 24-32.
- G. Alagona, C. Ghio (2009). *Phys Chem Chem Phys*, 11, 776-790, 2009.
- G. Alagona, C. Ghio (2009). *J. Phys. Chem. A* 113, 15206.
- M. M. Kabanda, L. Mammino (2012). *Int. J. Quantum Chem.* 112, 3691-3702.
- L. Mammino (2013). *J. Mol. Mode.* 19, 2127-2142.



NUEVOS ANTECEDENTES SOBRE QUÍMICA Y BIOLOGÍA DE LAS RHAMNACEAS

Julio Alarcón¹, Soledad Quiroz¹, Carlos L. Céspedes²

1. Laboratorio de Síntesis y Biotransformación de Productos Naturales; jularcon@ubiobio.cl, jalarcon57@gmail.com

2. Laboratorio de Bioquímica y Fitoquímica-Ecológica, Departamento de Ciencias Básicas. Universidad del Bio Bio, Chillan.

La familia Rhamnaceae se encuentra representada en la flora chilena por 18 especies agrupadas en 7 géneros. Estudios químicos realizados en la década del 70 y 80 del siglo recién pasado, reportan la existencia en estas plantas de alcaloides del tipo bencilisoquinolinicos, aporfinicos y ciclopeptidicos. Como también de terpenos derivados del lupanop, ursano, oleanano y de sapogeninas triterpenoidales derivadas de dammarano. Estudios de evaluación de la actividad biológica de estas plantas son escasos, la literatura reporta el uso en medicina popular de *Trevoa trinervis* como antiinflamatorio (Delporte et al., 1997; Alarcón et al., 2011).

En el presente estudio se realizaron extracciones de la parte aérea de *Talguenea quinquenervis*, *Colletia spinosissima* y *Discaria chacaye*, en metanol. Como también de raíces de *Talguenea quinquenervis*. Los extractos metanólicos obtenidos fueron fraccionados con solventes de polaridad creciente (n-hexano, acetato de etilo y agua). Cada una de las fracciones obtenidas fueron sometida a bioensayos frente a larvas de *Drosophila melanogaster* en el primer estadio de desarrollo; larvas de *Tenebrio molitor* con un peso corporal de 120 mg ± 20, y larvas de *Cydia pomonella* en el primer estadio larval. El extracto metanólico de raíz fue acidificado y extraído con éter etílico en una primera etapa. La fracción acuosa acida fue luego alcalinizada y extraída con éter etílico. Las fracciones obtenidas fueron sometidas a los bioensayos indicados anteriormente.

Todas las fracciones obtenidas presentaron actividad insecticida. La mayor actividad, 80 y 100% de mortalidad sobre *D. melanogaster*, se observa en las fracciones acuosas de *T. quinquenervis*, *C. spinosissima* y *D. chacaye*, respectivamente. Resultados similares se observan sobre *T. molitor* y *C. pomonella*, tanto para los extractos y fracciones de la parte aérea como los obtenidos de raíz de *T. quinquenervis*.

Desde las fracciones activas se han podido aislar e identificar alcaloides bencilisoquinolinicos, como coclaurina, N-metilcoclaurina y otros.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen financiamiento FONDECYT grants: 1130463 y Dirección de Investigación Universidad del Bio Bio DIUBB 122509 3/R.

REFERENCIAS

Carla L. Delporte, C. Nadine Backhouse, Silvia Erazo, Rosa E. Negrete, Carolina Silva, Andrés Hess, Orlando Muñoz, M. Dolores Garcia-Gravalos and Arturo San Feliciano.(1997) Biological Activities and Metabolites from *Trevoa trinervis* Miers. *Phytoterapy Research* 11, 504-507.

Julio Alarcon, Sofia Molina, Nicolas Villalobos, Luis Lillo, Claudio Lamilla, Carlos Céspedes, David Siegler. (2011) Insecticidal activity of Chilean Rhamnaceae: *Talguenea quinquenervi* (Gill. et Hook). *BLACPMA* 10(4), 380-385.



EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE UNA CUMARINA LIBRE Y MICROENCAPSULADA

Paola Andrea Cárdenas Cuadros^{1*}, Aura Rocio Hernández Camargo^{1,2}, Luis Fernando Ospina Giraldo², Diana Marcela Aragón Novoa^{1,2*}

1. Grupo de Sistemas de liberación controlada de moléculas biológicamente activas, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

2. Grupo Principios bioactivos de plantas medicinales, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

*Authors for correspondence:

Diana Marcela Aragón Novoa; Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 # 45 – 03 Bogotá, Colombia; dmaragonn@unal.edu.co

Paola Andrea Cárdenas Cuadros; Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 # 45 – 03 Bogotá, Colombia; pacardenasc@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

Las cumarinas, núcleo básico (1,2 benzopirona), hacen parte de un importante grupo de metabolitos heterocíclicos ampliamente distribuidos en especies vegetales. Se han aislado de diferentes especies distribuidas principalmente en las familias Umbeliferae, Rutaceae, Leguminosae, Rubiaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Solanaceae. Se derivan biosintéticamente del ácido shikímico, vía ácido cinámico (1). Debido a su diversidad estructural, la cumarinas presentan múltiples propiedades farmacológicas tales como antiviral, anticoagulante, antibacteriana, anticancerígena, antihelmíntico, antiinflamatoria, antioxidante, entre otras (2-4). En nuestro grupo de investigación, se ha estudiado la 6-metilcumarina la cual es una cumarina simple que ha mostrado actividad *in vivo* en el modelo de edema plantar pro carragenina e *in vitro* sobre la inhibición de la desgranulación leucocitaria y de la actividad de mieloperoxidasa (5).

OBJETIVO

Teniendo en cuenta la actividad promisoriosa de 6-metilcumarina, el presente trabajo evaluó las micropartículas de policaprolactona como un posible sistema de entrega que permita mejorar la actividad antiinflamatoria de este compuesto activo.

METODOLOGÍA

Micropartículas de policaprolactona cargadas con 6-metilcumarina fueron preparadas por el método de emulsificación evaporación del solvente (6). La actividad fue evaluada en ratas Wistar en el modelo de edema plantar. La inducción de la inflamación se realizó mediante la inyección subplantar de carragenina, 30 minutos después se administraron los tratamientos vía intraperitoneal a una dosis de 200 mg/kg. El volumen de la pata fue medido con pletismómetro UgoBasile® a las 1,3,5,7,9 y 24 horas después de la administración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las micropartículas fueron obtenidas con un tamaño de partícula de 8,3 µm, en cuanto al proceso se obtuvo un rendimiento del 77%, una eficiencia de encapsulación del 67 % y un efecto burst de 33%. Para 6-metilcumarina libre la máxima actividad antiinflamatoria fue observada entre las 3 y las 5 horas, con una inhibición de 30 y 40 % respectivamente. Después de las 7 horas, la inhibición fue menor al 4%. Por otra parte para el caso de la 6-metilcumarina microencapsulada, desde la primera hora se observó una inhibición de la inflamación del 56%, el máximo de inhibición ocurrió entre las 3 y 7 horas con una inhibición superior al 70% y aun después de 24 horas después se observa una importante actividad antiinflamatoria de 6-metilcumarina (inhibición de 46%).

CONCLUSIÓN

Las micropartículas de policaprolactona cargadas con 6-metilcumarina son un sistema de entrega que permite mejorar el efecto antiinflamatorio de este activo mostrando no solo una mayor inhibición de la inflamación sino además un efecto prolongado en el tiempo.

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoria de Investigación de la Universidad Nacional por la financiación del proyecto "Implementación de un bioensayo para la evaluación de la biodistribución de principios activos desde formas farmacéuticas microparticuladas"

BIBLIOGRAFÍA.

Kleiner, H.E., X. Xia, J. Sonoda, J. Zhang, E. Pontius, J. Abey, R.M. Evans, D.D. Moore & J. DiGiovanni (2008) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 232: 337-50.

Anand P B et al. A review on coumarins as acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012. 20(3): 1175-1180.

Sashidhara K V et al. Discovery and synthesis of novel 3-phenylcoumarin derivatives as antidepressant agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011. 21(7): 1937-1941.

Beillerot, A., et al., Synthesis and protective effects of coumarin derivatives against oxidative stress induced by doxorubicin. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008. 18(3): 1102-1105.

Vergel, N., Estudio de la Actividad Anticonvulsivante de Metabolitos Secundarios Tipo Cumarina. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Farmacia. 2011, Bogotá D.C.

Tewes F, Boury F, Benoit J-P: Biodegradable Microspheres: Advances in Production Technology. In: *Microencapsulation Methods and Industrial Applications*. Edited by Benita S, Second Edition edn. Boca Ratón; 2006: 1-41.