

# ●●● Fitoquímica

---

Pósters



## LIPID CONTENT, FATTY ACIDS, TOCOPHEROLS AND TOCOTRIENOLS COMPOSITION OF TEN BOLIVIAN QUINOA CULTIVARS

Melgarejo M.<sup>1,2</sup>, Almanza G.<sup>1</sup>, Sterner O.<sup>2</sup>, Masson L.<sup>3</sup>

1. Instituto de Investigaciones Químicas, San Andrés University (UMSA), La Paz-Bolivia

2. Division of Organic Chemistry, Lund University, Lund-Sweden

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

### INTRODUCTION

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) is a staple native crop food plant of high nutritional value grows in the Andean region from Bolivia and used as food by the Incas and previous cultures, being cultivated for several thousands years in South America.

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) has been cultivated for centuries in the highlands of South America. Quinoa has received considerable attention as an alternative crop throughout the world, because of its proteins is based on their quality, with a balanced composition of essential amino acids similar to the composition of casein, the protein of milk. It is also important to recognize and utilize the relatively high quantity of oil in quinoa. This grain can be a potential raw material for oil extraction. The balance of carbohydrates, lipids, and protein in the seed is considered favorable for a staple food and quinoa is relatively high in several vitamins and minerals (Risi and Galwey, 1984).

There is great genetic diversity in the Andean crops, with a variability of forms, colors and quantity of primary constituents (starches, proteins, sugars, fatty acids, minerals, vitamins) and secondary metabolites (saponins, alkaloids, tannins, oxalates, carotenes, anthocyanins, betalains).

Very little information is available, however, on the lipids of quinoa seeds in different cultivars of quinoa being adapted to growth from sea level to 4000 meters above sea level (masl), from 40 °S to 2 °N latitude, and from cold, highland climate (ethnic food). The purpose of this paper is to describe the lipid content, fatty-acid composition and Vitamin E of quinoa seed from diverse cultivars.

Quinoa contains relatively high amounts of fat compared to other cereals. It is also rich in vitamin E, which is said to protect its lipids from oxidation.

### MATERIAL AND METHODS

#### *Plant Materials*

Seeds from Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) five original cultivars and five commercial cultivars were obtained from PROINPA.

#### *Moisture and total lipid extraction*

Seed samples were ground to a fine powder in a mortar and pestle.

Triplicate 5. g samples of the powdered seed were performed to determinate moisture and total lipid, according to NB 312026 and NB 312027 respectively.

#### *Fatty Acid Analysis by Gas - Chromatography*

Fatty acid methyl esters (FAME) were prepared by Frances method. The upper petroleum ether was removed and analyzed by GC.

#### *Tocopherols and toco trienols by HPLC*

100 mg of total lipids was employed to 10 ml with hexane grade HPLC and analyzed by HPLC.

## RESULTS AND DISCUSSION

The seeds of the ten cultivars of quinoa contain between 5,37 % and 6,97 % fat on a dry-weight basis, a level favorable for a staple food, but too low for quinoa to have any commercial value as an oilseed. The fatty acid composition of the total lipid fraction differed very little among the ten cultivars. Saturated fatty acids comprised approximately between 9,7 % and 11,0 % of the total fatty acids in the seed of the ten cultivars. The predominant saturated fatty acid in quinoa seed of the ten cultivars was palmitic acid between 8 % and 9 %. Monounsaturated fatty acids comprised approximately between 25,7 % and 28,5 % of the total fatty acids in the seed of the ten cultivars. The predominant monounsaturated fatty acid in quinoa seed of the ten cultivars was oleic acid between 22,7 % and 26,1 %. Polyunsaturated fatty acids comprised approximately between 60,6 % and 63,0 % of the total fatty acids in the seed of the ten cultivars. The predominant polyunsaturated fatty acids in quinoa seed of the ten cultivars were linoleic acid and linolenic acid between 39,8 % - 48,6 % and 4,7 % - 10,1 % respectively.

Erucic acid was found at levels slightly below 2 % in all of the samples. Quinoa seed lipids appear to form a high-quality edible vegetable oil, similar in fatty acid composition to soybean oil. Saturated fatty acid content is lower in quinoa oil than in some common vegetable oils.

## CONCLUSION

Although quinoa is higher in fat than are most cereals, the polyunsaturated fats in quinoa. The amount of  $\alpha$ -tocopherol in quinoa is higher than that of wheat. Thus, quinoa seeds can be a source of vitamin E. The amount of  $\gamma$ -tocopherol is twice approximately that of  $\alpha$ -tocopherol in quinoa.

With vitamin E as a naturally occurring antioxidant in quinoa, and its presence in abundant quantities, the potential for quinoa to be a new oilseed is enhanced, and it should appeal to food product developers interested in food applications focusing on antioxidant qualities naturally present in the raw products.

Quinoa contains high amounts of vitamin E, which is said to have a protective effect on the polyunsaturated fats in quinoa. Vitamin E acts as a free radical scavenger, terminating the radical reaction in autoxidation.



## EFFECTO DE LA ETAPA FENOLÓGICA SOBRE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE PLANTAS SILVESTRES DE *Satureja macrostema* (BENTH.) BRIQ.

Torres-Martínez Rafael<sup>1</sup>, Fulgencio-Negrete Rodolfo<sup>1</sup>, Hernández-García Alejandra<sup>1</sup>, García-Rodríguez Yolanda<sup>3</sup>, Ramírez-Chávez Enrique<sup>2</sup>, López-Gómez Rodolfo<sup>1</sup>, Martínez-Pacheco Mauro M.<sup>1</sup>, Bello-González Miguel A.<sup>4</sup>, Molina-Torres Jorge<sup>2</sup> y **Salgado-Garciglia Rafael<sup>1\*</sup>**

1. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), Edif. B3, CP 58030, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México. \*rafael.salgadogarciglia@gmail.com
2. Lab.de Fitobioquímica, CINVESTAV Campus Guanajuato, Apdo. Postal 629, CP 36500, Irapuato, Guanajuato, México.
3. Centro de Investigación en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán 58190, México.
4. Fac. de Agrobiología Presidente Juárez, UMSNH, Lázaro Cárdenas y Berlín S/N, Colonia Viveros, CP 60170, Uruapan, Michoacán, México.

### INTRODUCCIÓN

Los compuestos volátiles derivan del metabolismo secundario de las plantas por lo que su producción y composición no depende exclusivamente de los mecanismos de biosíntesis, la variabilidad puede ser atribuida a factores genéticos, abióticos como luz, temperatura, disponibilidad de agua, etc., y bióticos ocasionados por la interacción con animales, plantas y microorganismos<sup>1</sup>. De igual forma, las etapas fenológicas o estadios de desarrollo y el tipo de órgano vegetativo pueden ser determinantes en la composición y acumulación de compuestos volátiles<sup>2</sup>. Debido a la alta demanda de las plantas medicinales silvestres nativas, es necesario realizar investigaciones para esclarecer que factores son determinantes en la variación de compuestos volátiles, para incrementar los rendimientos en el contenido de dichos compuestos bajo cultivo en campo e invernadero. Tal es el caso de *Satureja macrostema* (Benth.) Briq. (nurite), una especie de la familia Lamiaceae de gran importancia en la medicina tradicional de los pueblos Purépecha (Michoacán, México), que produce compuestos volátiles de naturaleza terpénica con actividad biológica como el limoneno, pulegona, carvacrol y timol<sup>3</sup>. El objetivo de esta investigación fue determinar el contenido de dichos compuestos volátiles en diferentes etapas de desarrollo (crecimiento vegetativo, floración y fructificación) en plantas silvestres durante un año.

### METODOLOGÍA

Para realizar el muestreo en campo (in situ), se eligieron plantas de nurite ubicadas en un sitio del bosque de pino-encino en el municipio de Charapan (Michoacán, México). La identificación y cuantificación de terpenos se realizó en extractos hexánicos de la parte aérea (tallo y hojas apicales) por CG-EM, en muestras de 1g peso fresco. La pureza y confirmación de cada compuesto identificado se obtuvieron utilizando la base de datos NIST02 (National Institute of Standards and Technology).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los terpenos pulegona, limoneno, linalol, mentona y verbenona, fueron los compuestos volátiles mayoritarios. Al comparar el contenido de éstos durante las etapas de desarrollo en plantas silvestres de nurite, pudo observarse una variación dependiente de la etapa fenológica. Durante el crecimiento vegetativo, que ocurre durante los meses de julio a septiembre, los terpenos se presentaron en los niveles más altos, durante la floración (diciembre) y fructificación (abril) éstos disminuyeron. El compuesto pulegona fue en todos los casos el de mayor cantidad (101.73 µg/g), seguido de linalol (43.28 µg/g), verbenona (29.81 µg/g), mentona (23.76 µg/g) y limoneno (16.72 µg/g) todos expresados en peso fresco. Este comportamiento en la variación de terpenos ha sido reportado en *Satureja montana*, en la que el contenido depende de las etapas de desarrollo y lugar de procedencia de las plantas<sup>4</sup>.

## CONCLUSIÓN

Los resultados de la presente investigación demuestran que existe una variación en el contenido de volátiles en nurite, dependiente de la fenología de las plantas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Dudareva, N. y Negre F. 2005. *Curr. Op. Plant Biol.* 8: 113-118.
2. Figueiredo, A. C., Barroso J.G., Pedro L.G. y Scheffer J.J.C. 2008. *Flavour and Fragrance J.* 23: 213-226.
3. Bello, G.M.A. 2006. Libro Técnico No. 4. CIRPAC. INIFAP. Michoacán, México. 138p.
4. Cazin, C., Jonard R., Alain P. y Pellecuer J. 1985. *CR Acad. Sc., Paris.* 6: 237-240.

## FINANCIAMIENTO

CIC/rsg 2.10-UMSNH (2012-2013).



## NORMALIZACIÓN DEL CEDRÓN PARA SU UTILIZACIÓN MEDICINAL EN LA ARGENTINA

Di Leo Lira Paola, Retta Daiana, **van Baren Catalina**, Bandoni Arnaldo

Cátedra de Farmacognosia-IQUIMEFA (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 2 piso (1113) Buenos Aires, Argentina. cbaren@ffybu.uba.ar

### INTRODUCCIÓN

En la Argentina existe una gran riqueza de especies nativas aromáticas y medicinales, siendo endémicas alrededor de 300 de ellas<sup>1</sup>. El acopio de estos productos suele hacerse por extractivismo de materiales silvestres o de cultivos desarrollados a partir de materiales genéticos no bien definidos o elegidos. Ambas alternativas aportan una variedad de calidades, lo que significa una carencia importante de homogeneidad en la calidad que se ofrece a la industria.

Un caso típico es el cedrón, *Aloysia citrodora* Palau. Si bien en el noroeste argentino se acopia material silvestre, en el resto del país, así como en muchos otros países latinoamericanos, la provisión está cubierta por cosecha de material cultivado, en casi todos los casos sin una selección específica del material genético de origen. Como consecuencia de esta situación es imperioso disponer de normas de calidad que permitan garantizar una calidad farmacéutica acorde con los requerimientos del mercado. Con este criterio la EuPh 7.8 ya ha incluido al cedrón en sus monografías; pero es necesario disponer de una norma nacional, teniendo en cuenta que en nuestro país nuestro grupo de trabajo ya había identificado una gran biodiversidad en la especie. El objetivo de este trabajo fue aportar las normas mínimas de calidad para el uso del cedrón tanto en nuestro país como en la región.

### METODOLOGÍA

Se colectaron cerca de 250 muestras de cedrón obtenidas de cultivos y de poblaciones silvestres en la zona de desarrollo natural en la Argentina. Se analizó la fracción volátil por GC-FID-MS y se valoró el contenido de acteósido por HPLC, según metodología EuPh 7.8<sup>2</sup>.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se confirmó la presencia de 4 quimiotipos en función de los perfiles de la fracción volátil<sup>4</sup>. Se definió la mejor calidad aromática proponiendo los marcadores de calidad en el aceite esencial y sus intervalos de validez, permitiendo incluso discriminar poblaciones con una composición química no apta para uso medicinal (alto contenido de los isómeros de tuyona)<sup>4</sup>. Se evaluó finalmente la variación existente en el contenido de acteósido en las distintas poblaciones y muestras analizadas, encontrándose valores entre 1,4 y 2,7% (la EuPh exige un mínimo de 2.5%).

## CONCLUSIONES

Estos resultados fueron adoptados en la redacción de una monografía para ser incluida en la próxima edición de la Farmacopea Argentina.

## FINANCIADORES

Proyectos UBACyT (20020110200118 y 20020100100348); PICT2008-1969.

## BIBLIOGRAFÍA

<sup>1</sup>Goleniowski M.E., Bongiovanni G.A., Palacio L., Núñez C.O., Cantero J.J. (2006). "Medicinal plants from the Sierra de Comechingones, Argentina". *J. Ethnopharmacol.* 107: 324-341.

<sup>2</sup>*European Pharmacopoeia* 7.8 (2013). Monograph: Lemon verbena leaf. Strasbourg: Council of Europe.

<sup>3</sup>Gil A., van Baren C., Di Leo Lira, P., Bandoni A. (2007). "Identification of the Genotype from Contents and Composition of the Essential Oil of Lemon Verbena (*Aloysia citriodora* Palau)". *J. Agric. Food Chem.* 55:8664-8669.

<sup>4</sup>Di Leo Lira P., van Baren C., Retta D., Gil A., Gattuso M., Gattuso S., Bandoni A. (2008). "Characterization of lemon verbena (*Aloysia citriodora* Palau) from Argentina by the Essential oil" *J. Essent. Oil Res.* 20: 350-353.



## RELACIÓN ENTRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES DE *Rosmarinus officinalis*

Adriana M. Ojeda-Sana<sup>1</sup>, Graciela Farías<sup>2</sup>, Otto Brutti<sup>3</sup>, Arnaldo Bandoni<sup>4</sup>, **Catalina van Baren<sup>4</sup>**, Silvia Moreno<sup>1</sup>

1. Fundación Instituto Leloir, Instituto de Investigaciones Bioquímicas Buenos Aires (IIBBA-CONICET), Patricias Argentinas 435 (C1405), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
2. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos
3. Dirección General de Recursos Naturales, Gobierno de la Prov. de Entre Ríos
4. Cátedra de Farmacognosia-IQUIMEFA (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 2 piso (1113) Buenos Aires, Argentina; cbaren@ffyb.uba.ar

### INTRODUCCIÓN

Las actividades biológicas de los aceites esenciales (AEs) se atribuyen en general a sus compuestos mayoritarios (Burt, 2004). Dada la necesidad de nuevas drogas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, investigamos los compuestos bioactivos de extractos y aceites esenciales de romero *Rosmarinus officinalis*. Recientemente reportamos la actividad antioxidante y antibacteriana de dos aceites de *R. officinalis* ricos en  $\alpha$ -pineno o en mirceno e investigamos la relación de la composición química y su actividad antibacteriana (Ojeda-Sana et al., 2013). Los resultados obtenidos sugieren que el  $\alpha$ -pineno cuando está presente en un aceite esencial de *R. officinalis* en cantidades iguales o mayores a la correspondiente a su concentración inhibitoria mínima (CIM), le confiere al mismo eficacia antibacteriana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas.

El objetivo fue investigar si dicha inferencia es aplicable a otros Aes. Cuantificamos los principales compuestos bioactivos y determinamos los valores de CIM contra dos cepas bacterianas patógenas para humanos de los AEs de cuatro accesiones de romero presentes en un Banco de Germoplasma en la provincia de Entre Ríos, Argentina, que presentaban diferencias morfoanatómicas y se denominaron: Prendedor, Abalsamino, Florecido y Sin flor, en comparación con un aceite con alto contenido de pineno, como el AE de trementina.

### METODOLOGÍA

Se determinó la composición química de los AE por GC-FID-MS. La actividad antibacteriana por ensayo de microdilución en medio líquido según Moreno et al., 2006 y Romano et al., 2009.

### RESULTADOS

Los cinco compuestos mayoritarios de los AEs fueron:  $\alpha$ -pineno, mirceno,  $\beta$ -pineno, 1,8-cineol, alcanfor y borneol representando entre 59,7%-78,5% del total. Los AEs de romero Abalsamino y Prendedor contienen  $\alpha$ -pineno (16% y 24.9%, respectivamente). Por otro lado, los AEs de romero Florecido y Sin flor contienen mirceno (40.6% y 42.8) y bajos contenidos de  $\alpha$ -pineno (8.3% y 9.1%, respectivamente). Los AEs de romero Prendedor y Abalsamino fueron los más eficaces para inhibir 100% el crecimiento de *Escherichia coli* (14  $\mu$ L/mL y 24  $\mu$ L/mL, respectivamente). Por el contrario, los AEs de romero Sin flor y Florecido mostraron baja eficacia antibacteriana (12  $\mu$ L/mL y 24  $\mu$ L/mL inhibieron un 20% y 4% el crecimiento bacteriano, respectivamente). El AE de trementina con alto contenido de  $\alpha$ -pineno (45%) inhibió el 100% del crecimiento de *E. coli* luego del agregado de 3  $\mu$ L/mL del aceite. Respecto a la capacidad inhibitoria de los aceites sobre *Enterococcus faecalis*, se encontró que 16  $\mu$ L/mL del AE de Abalsamino con un contenido de 16% de  $\alpha$ -pineno inhibió el 100% el crecimiento de *E. faecalis*. Un resultado similar se obtuvo con 3  $\mu$ L/mL del aceite de pino.



## CONCLUSIÓN

Se encontró una correlación significativa entre la actividad antibacteriana de los AEs con un contenido de  $\alpha$ -pineno mayores al 16% contra las bacterias *E. coli* y *E. faecalis*. Esto muestra la importancia de la determinación de los bioactivos en los distintos quimiotipos de una especie aromática para asegurar la eficacia esperada.

## FINANCIAMIENTO

PICT 2008-1969; Universidad de Buenos Aires (20020090200401), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIP-CONICET N°00894), Argentina.

## BIBLIOGRAFÍA

Burt, *J Food Microbiol* 94, 223-253 (2004); Moreno et al., *Free Radical Research* 40, 223-231 (2006); Ojeda-Sana et al., *Food Control* 31 189-195 (2013); Romano et al., *Food Chemistry* 115, 456-461 (2009).



## DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA *Buddleja americana*

Betancourt Nellibeth<sup>1</sup>, Riveros Yeniskel<sup>1</sup>, Rojas-Fermín Luis<sup>1</sup>, Usubillaga Alfredo<sup>1</sup>, Ustáriz Francisco<sup>2</sup>

1. Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes

2. Departamento de Bioanálisis Clínico, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes

### INTRODUCCION

El género *Buddleja* L (Buddlejaceae) se encuentra en regiones tropicales, subtropicales y templadas. En Sudamérica se distribuye en Brasil, Venezuela, Uruguay, Paraguay y Noreste de la Argentina. Crecen en campos altos, bosques, bordes de camino y terrenos modificados. Algunas especies del género *Buddleja* han sido estudiadas desde el punto de vista farmacológico. A la *B. globosa*, por ejemplo, se le determinó actividad antiinflamatoria, analgésica y antioxidante, a la *B. cordata* y *B. globosa* se les detectó actividad antimicrobiana. En el presente trabajo se evalúa la actividad antibacteriana del aceite esencial obtenido de hojas frescas de *Buddleja americana* contra 4 cepas de bacterias ATCC Gram positivas y Gram negativas.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Hojas Frescas de *Buddleja americana* (1.500 g) fueron recolectadas en la Vía a Jaji, estas fueron sometidas a hidrodestilación, empleando la trampa de Clevenger. El aceite esencial obtenido fue analizado por GC-MS, empleando un equipo Hewlett Packard 5973 GCMS 70 e V, utilizando una columna capilar HP-5MS (30m x 0,25 mm, 0,25  $\mu$ m). Se empleó una temperatura inicial de 60 °C (1 min) y luego se calentó a razón de 4 °C/min hasta 260 °C (20 min). La identificación de los componentes se realizó mediante comparación computarizada de los espectros de masas obtenidos con los espectros de la librería Wiley y el cálculo de los índices de Kováts. Para la evaluación de la actividad antibacteriana del aceite se usó el método de difusión en agar con discos de papel. Las bacterias utilizadas fueron *S.aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357). Como control positivo se utilizaron antibióticos comerciales para chequear la sensibilidad de las bacterias frente a los antibióticos de uso común y como control negativo se usó un disco impregnado con DMSO para descartar posible actividad del solvente contra las bacterias ensayadas.

### RESULTADOS / DISCUSIÓN

En total se lograron identificar 17 compuestos que representan más del 92,8 % de la mezcla del aceite esencial, los componentes mayoritarios resultaron ser:  $\alpha$ -humuleno (29,28 %); ar-curcumeno (27,91 %), g-curcumeno (9,21%), *trans*- $\beta$ -cariofileno (8,18%). El rendimiento del aceite esencial resultó ser muy bajo y está formado básicamente por hidrocarburos sesquiterpénicos. Al componente mayoritario ( $\alpha$ -humuleno) se le ha detectado actividad antifúngica y citotóxica y en algunas mezclas, en las se encuentra como componente minoritario, se ha reportado actividad antimicrobiana.

### CONCLUSIÓN

Se pudo evidenciar que las cepas bacterianas estudiadas expresaron resistencia al aceite esencial de *Buddleja americana* a las concentraciones estudiadas. Sin embargo se sugiere realizar la actividad por el método de microdilución en placas de elisa en donde no interfiere la difusión de los componentes del aceite.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Backhouse N, Rosales L, Apablaza C, Goity L, Erazo S, Negrete R, et al. Analgesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Buddleja globosa*, Buddlejaceae. *Journal of Ethnopharmacology* 2008; 116(2):263.
2. Guillermo Avila J, de Liverant JG, Martínez A, Martínez G, Muñoz JL, Arciniegas A, et al. Mode of action of *Buddleja cordata* verbascoside against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 66(1):75.



## OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DE SEMILLAS DE *Passiflora edulis* SIMS. POR DOS METODOS DE EXTRACCIÓN

Laura Camila Bautista Serrano, Javier Rincón Velandia, Maritza Adelina Rojas Cardozo

Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogotá, Departamento de Farmacia  
GIFFUN – Grupo de Investigación en Fitoquímica y Farmacognosia de la Universidad Nacional

### INTRODUCCIÓN

La utilización de subproductos o materiales de desecho de empresas productoras de alimentos o derivados de frutas, al igual que los procedentes de las frutas consumidas en la dieta normal de la región, son aprovechables para la obtención de aceites de estos materiales vegetales. Los aceites son productos con una amplia gama de utilidades en el sector farmacéutico, cosmético y alimenticio.

La obtención de aceites fijos se realiza por diferentes métodos, por lo que este trabajo tiene como fin principal comparar el aceite de las semillas de *Passiflora edulis* Sims. (Gulupa) obtenido por medio de percolación y expresión, y caracterizarlos para determinar diferencias y similitudes.

Las especies del género *Passiflora*, al cual pertenece la Gulupa, son originarias de la región amazónica; crecen en forma silvestre en un área que abarca desde Colombia hasta el norte de Argentina, Uruguay y Paraguay. Otros nombres comunes de la Gulupa son: Curuba redonda, maracuyá morado, parchita<sup>1</sup>.

### METODOLOGÍA

Las semillas de *Passiflora edulis* Sims se secaron en una estufa de aire circulante, el material seco (424,5 g) se sometió a extracción por percolación exhaustiva con hexano, el extracto obtenido fue concentrado para retirar el solvente.

Otra porción del material seco (330 g), fue sometido a extracción por expresión empleando una prensa de 15t acoplada a un cilindro con émbolo asistida con temperatura, con lo cual se extrajo el aceite directamente.

Las dos muestras fueron caracterizadas tanto física como químicamente, siguiendo los parámetros y procedimientos de la Farmacopea Americana (USP NF 34)<sup>2</sup>. Se realizaron los siguientes ensayos: Densidad, pH, Índice de Refracción, Índice de Acidez, Índice de Esterificación, Índice de Peróxido e Índice de Saponificación.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aceites obtenidos presentan un color naranja intenso, el obtenido por expresión es traslúcido y mantiene el olor propio del fruto, a diferencia de la muestra por percolación que mantuvo olor remanente al solvente. Las pruebas de caracterización mostraron que el aceite obtenido por percolación presenta mayor índice de peróxidos (19,48 vs 2,31), índice de esterificación (4,13 vs. 3,08) e índice de saponificación (5,41 vs. 4,99). El aceite por expresión, mayor índice de acidez (1,91 vs 1,28). Ambos presentan un índice de refracción cercano a 1.47 y un pH de 4.

### CONCLUSIONES

La obtención de aceites por el método de expresión, presenta grandes ventajas entre las que se resaltan la no utilización de solventes, menor tiempo para la extracción y la obtención de un producto purificado, que conserva en mayor proporción las características propias del material vegetal de partida.

Emplear semillas de *Passiflora edulis* Sims como materia prima para la obtención de aceites, teniendo en cuenta que estas son consideradas como desecho, permite a futuro plantear la obtención de aceites fijos como un proyecto sustentable.

## FINANCIAMIENTO

Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

## BIBLIOGRAFÍA

<sup>1</sup>Galindo Pacheco, Julio Ricardo; Gomez Sanchez, Stella/ Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) producción y manejo poscosecha. Colombia. Corredor Tecnológico Agroindustrial, Cámara de Comercio de Bogotá. 2010

<sup>2</sup>The United States Pharmacopoeia Convention. The United States Pharmacopoeia – National Formulary 34. 2011 <401>



## PERFIL DE ISOFLAVONOIDES Y PTEROCARPANOS EN UNA VARIEDAD DE SOYA COLOMBIANA (SOYA PANORAMA 29)

Parra-González Vanessa<sup>1</sup>, Murillo-Cardona Jennifer<sup>2</sup>, Durango Diego<sup>2</sup>, Marín-Loaiza Juan Camilo<sup>1</sup>

1. GRUPO GIFFUN. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá; jcmarinlo@unal.edu.co

2. Universidad Nacional de Colombia, Escuela de Química, Medellín, Colombia

### INTRODUCCIÓN

La soya (*Glycine max*) es considerada una fuente alimenticia muy completa, puesto que provee aminoácidos esenciales, carbohidratos, fibra, vitaminas, grasas vegetales y proteína. En muchos países la producción interna no alcanza a cubrir la demanda local, por lo cual se debe recurrir a la importación de grandes cantidades de esta leguminosa. Los bajos rendimientos de los cultivares se deben en parte al ataque de microorganismos fitopatógenos, lo cual implica usar plaguicidas sintéticos deletéreos para el medio ambiente y la salud humana. A partir de esto se ha sugerido la búsqueda de nuevas variedades resistentes, con una alta capacidad de producción de fitoalexinas, que sean capaces de controlar la colonización microbiana de los cultivos. En el presente trabajo se estableció el perfil cromatográfico por CLAE-DAD y la cuantificación de isoflavonas y pterocarpanos presentes en la variedad Soya Panorama 29.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para el estudio se emplearon plántulas de soya de la variedad Panorama 29 con 12 días de germinación, a las cuales se les retiró previamente el tegumento. Las plántulas fueron maceradas en presencia de etanol (40 mL). El material resultante se filtró, se concentró a presión reducida y se extrajo con acetato de etilo (3x5 mL). Los extractos secos resultantes se disolvieron en metanol (5.0 mL) y fueron microfiltrados. La detección y posterior cuantificación de cada una de las muestras obtenidas se realizó por cromatografía líquida de alta eficiencia con arreglo de diodos (CLAE-DAD). La cuantificación se llevó a cabo usando curvas de calibración y los resultados fueron reportados como mg de metabolito/gramo de material fresco.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron los isoflavonoides precursores de las fitoalexinas de soya, daidzeína y genisteína, con sus correspondientes conjugados (daidzina, malonil-daidzina, genistina y malonil-genistina). También se detectó el isoflavonoide formononetina, el cumestano cumestrol y los pterocarpanos tipo gliceolina (como mezcla de isómeros). Los resultados muestran la presencia del isoflavonoide daidzeína (9.71 mg/g) y sus derivados daidzina (19.78 mg/g) y malonil daidzina (12.61 mg/g). El compuesto mayoritario detectado fue el isoflavonoide genistina (50.05 mg/g), seguido de su derivado, malonil genistina (42.13 mg/g). La formononetina y el cumestrol mostraron la misma concentración (1.78 mg/g). Los metabolitos minoritarios fueron las fitoalexinas de soya, conocidas como gliceolinas (1.02 mg/g).

### CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos evidencian un perfil completo de metabolitos claves para la defensa vegetal de esta especie. La caracterización posterior de este tipo de constituyentes en otras variedades colombianas permitirá obtener información útil para seleccionar aquella que presente una mejor capacidad de producción y un alto potencial defensivo contra patógenos.

## AGRADECIMIENTOS

A la doctora Diana Romero por el suministro de las semillas. Al laboratorio QOPN de la Universidad de Antioquia por su apoyo en la realización de los ensayos cromatográficos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Durango D., Quiñones W., Torres F., Rosero Y., Gil J., Echeverri F. *Phytoalexin Accumulation in Colombian Bean Varieties and Aminosugars as Elicitors*. *Molecules*. 2002, 7(11), 817-832.
2. Simões K., Dietrich S., Hahn M., Braga M. *Purification and characterization of a phytoalexin elicitor from spores of the saprobe Mucor ramosissimus*. *Revista Brasil Bot.* 2005, 28(4), 735-744.



## ACCIÓN ANTIOXIDANTE DE HIDROLATOS DE PLANTAS COLOMBIANAS

Pino Benitez, N.<sup>1</sup>, Rivas, K. E.<sup>1</sup>, Prado, G. N.<sup>2</sup>

1. Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Colombia; nayivepino@gmail.com

2. Hospital del Tunal, Bogotá, Colombia

### INTRODUCCIÓN

El grupo de productos naturales de la universidad tecnológica del Chocó en la última década viene trabajando con bioactividad de plantas colombianas entre ellas, los antioxidantes de origen natural. El creciente interés en estas moléculas para ser usadas como ingredientes activos en productos cosméticos, alimenticios y farmacéuticos de acuerdo con Ramírez y Echeverri (2007), ha generado un espacio importante para los productos naturales, así mismo las evidencias experimentales señalan la capacidad de algunos metabolitos secundarios como neutralizadores naturales de radicales libres según muchos estudiosos sobre el tema. El objeto de este trabajo fue determinar el potencial antioxidante y contenido fenólico total de algunos residuos (hidrolatos) obtenidos después de la hidrodestilación convencional de los aceites esenciales de algunas plantas aromáticas colombianas de la selva pluvial central, cultivadas en un vivero de la Universidad Tecnológica del Chocó, para categorizar y valorar su uso como material antioxidante frente a las vitaminas antioxidantes E y C.

### METODOLOGIA

Se uso como material vegetal *Ocimum campechianum*, variedad blanca y morada, *Eringyum foetidum*, *Cymbophogom citratus* y *Eucaliptus globulus*. La evaluación del potencial antioxidante de los hidrolatos se llevó a cabo por el método de decoloración del radical libre DPPH\* (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), siguiendo las variaciones de la reacción espectrofotométricamente, de acuerdo con la técnica propuesta por Bounatirou et al., (2007). El contenido fenólico total se cuantificó utilizando el reactivo de Folin- Ciocalteu al 10 %. El contenido en compuestos fenólicos de los hidrolatos se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de material vegetal seco (mg EAG/gmvs) (Erdemoglu et al., 2009).

### RESULTADOS

Los cinco hidrolatos evaluados presentaron buena actividad antioxidante, con valores de  $CI_{50}$  entre 13.05 y 48.72  $\mu\text{g/mL}$ , siendo el mejor comportamiento para *Eucaliptus globulus* seguido de las dos variedades de *Ocimum campechianum*. Así mismo la responsabilidad de los compuestos fenólicos en la actividad antioxidante de los hidrolatos se estimó en 91,6%, según el análisis de correlación sobre la participación de los compuestos fenólicos en la capacidad estabilizadora de moléculas de DPPH. No obstante estos valores no fueron superados por las vitaminas antioxidantes E y C con valores de  $CI_{50}$  4.5 y 5.43  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente.

### CONCLUSIÓN

Se concluye que el subproducto hidrolato obtenido del proceso de hidrodestilación de estas especies aromáticas colombianas, puede ser considerado como material con actividad antioxidante.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Bounatirou, et al. 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry* 105:146–155.
2. Erdemoglu, N., et al. 2009. Estimation of anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities on *Arctium minus* (Hill) Bernh. ssp. *Minus*. *J. Ethnopharmacol* 121: 318-23
3. Ramírez, R y F. Echeverry. 2007. ¿Son seguros y eficientes los antioxidantes? *Scientia et Technica* 33:41-44



## COMPOSICIÓN QUÍMICA Y BIOACTIVIDAD DEL ACEITE ESENCIAL VS EXTRACTO ETANÓLICO DE *Piper divaricatum*: PIPERACEAE DEL NOR-OCCIDENTE COLOMBIANO.

Pino Benitez, N.<sup>1</sup>, Olivero, J.<sup>2</sup>, Stashenko, E. E.<sup>3</sup>

1. Grupo de Productos Naturales, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Colombia; nayivepino@gmail.com

2. Laboratorio de Química computacional, Campus Zaragocilla, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

3. Centro nacional de investigaciones de plantas aromáticas y medicinales -CENIVAM, Bucaramanga, Colombia

### INTRODUCCIÓN

En la flora chocoana (nor-occidente colombiano) son muy abundantes las *Piperaceae*. Esta familia ha sido investigada como fuente de nuevos productos naturales con potencial de actividad antitumoral, antimicrobial, antifúngica e insecticida, este estudio busca caracterizar y valorar el uso de *Piper divaricatum* como material repelente de insectos.

### METODOLOGÍA

El extracto etanólico se obtuvo por maceración en frío y concentrado en rotavapor a presión reducida. La extracción del aceite esencial se llevó a cabo por hidrodestilación asistida por la radiación de microondas, (MWHF) como lo describe Stashenko *et al.* El análisis del aceite esencial se realizó por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. Para los bioensayos fue utilizada la especie *T. castaneum*, perteneciente al laboratorio de química ambiental y computacional de la universidad de Cartagena. La actividad repelente fue determinada usando el método de área de preferencia, cuantificando el porcentaje de repelencia obtenido a diferentes concentraciones de exposición de acuerdo con Chaubey, 2007.

### RESULTADOS

El aceite esencial de *P. divaricatum* evaluado presentó actividad repelente superior frente al extracto etanólico como al control, en la concentración de 0.2  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  a las dos y cuatro horas de tiempos de exposición. Mientras que el extracto presentó actividad igual a la del control comercial. En el aceite esencial de *P. divaricatum* fueron caracterizados treinta y tres compuestos representando el 97,0% del total del aceite; los fenilpropanoides constituyen el 70,5%, con eugenol (29,3%) y metil eugenol (20,5%) como mayores constituyentes, los hidrocarburos sesquiterpénicos representan el 22,3% del aceite esencial siendo  $\alpha$ -Elemeno (10,5%) y *trans*- $\beta$ -Cariofileno (4,7%), los mayores representantes de esta clase de compuestos, un pequeño porcentaje del aceite esencial está constituido por sesquiterpenos oxigenados (2,9%), hidrocarburos monoterpénicos (1,0%) y monoterpenos oxigenados (0,3%). En el extracto etanólico se evidencian flavonoides, esteroides, y alcaloides.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Chaubey, M.K., 2007. Insecticidal activity of *Trachyspermum ammi* (Umbelliferae), *Anethum graveolens* Umbelliferae) and *Nigella sativa* (Ranunculaceae) essential oils against stored-product beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Agricultural Res.* 2 (11), 596-600.
2. Stashenko E. et al. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity *J. Chromatogr. A* 1025: 93-103 (2004)





## ANÁLISIS PRELIMINAR DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Machaerium floribundum* BENTH (FABACEAE) Y SU RELACIÓN CON LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

Díaz Lorena E.<sup>1</sup>, Rojas V. Janne<sup>2</sup>, Pérez Alida<sup>2</sup>, Medina Ana<sup>3</sup>, Martí-Mestres Gilberte<sup>4</sup>

1. Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela; lorediv@yahoo.com
2. Laboratorio "C" de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela
3. Departamento de Ciencias de los Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela
4. IBMM, UMR5247, Faculté de Pharmacie, Université Montpellier 1, Montpellier, Francia

El estrés oxidativo se produce cuando la exposición a los radicales libres es grande y la capacidad de neutralización de las enzimas biológicas antioxidantes no es suficiente (1). Las plantas pueden constituir una fuente alternativa importante de flavonoides y taninos con propiedades antioxidantes, los cuales actúan como secuestradores de radicales libres (2,3). En la presente investigación se realizó el fraccionamiento del extracto etanólico de las hojas de *Machaerium floribundum*, el cual presentó una alta actividad antioxidante, valorada en estudios anteriores (4), a los fines de realizar el análisis preliminar de la composición química del extracto, relacionada con la actividad antioxidante. Hojas secas y pulverizadas de *Machaerium f* (610g), se trataron previamente con hexano a los fines de extraer el contenido graso y los compuestos más apolares del material vegetal. El material vegetal obtenido fue incubado por 6 días con etanol temperatura ambiente, se filtró y se secó a presión reducida en rotavapor. El fraccionamiento del extracto etanólico se realizó en embudo de decantación con los siguientes solventes: Hexano, cloroformo, acetato de etilo y butanol, quedando como remanente una fracción acuosa, las cuales fueron llevadas a sequedad a presión reducida en rotavapor y la fracción acuosa fue liofilizada. La reacción de Despolimerización de proantocianidinas, evidenció un color rojo característico de antocianidinas. Asimismo la reacción de Cloruro férrico mostró coloraciones pardas, así como la hidrólisis ácida y básica evaluadas por HPLC, manifestaron la presencia de taninos condensados no hidrolizables. Los estudios por HPLC mostraron en la fracción acuosa y butanólica un compuesto con tiempo de retención de 14,2 min, responsable de la actividad antioxidante, el cual se observa como una sola y única banda en la fracción butanólica. La actividad secuestrante de radicales libres fue medida por el 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) y se utilizó como referencia ácido ascórbico. Este compuesto a concentración de 1 mg/ml mostró una actividad secuestrante de radicales libres por DPPH de 80% ± 4,7 con una  $CI_{50}$  de 0,5 mg/ml. El estudio evidenció la presencia de una procianidina (tanino condensado) en el extracto etanólico de las hojas de la misma planta con una alta actividad antioxidante medida por DPPH.

### BIBLIOGRAFÍA

- (1) Davies KJA. (1995). Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp.* 61: 1-34
- (2) Draeos Z. (2006). *Cosmeceuticos*. Elsevier. España. 228pp
- (3) González Y, Peña M, Sanchez R, Santana J. (2001). Taninos de diferentes especies vegetales en la prevención del fotoenvejecimiento. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 20 (1): 16-20.
- (4) Díaz L, De Montijo S, Medina AL, Meléndez P, Vian L, Martí-Mestres G. (2011). Actividad del extracto etanólico de las hojas de *Machaerium floribundum* contra bacterias que inducen el acné y su efecto citoprotector y antioxidante sobre Fibroblastos. *Revista Peruana de Biología*. 18(2):153-158

### FINANCIAMIENTO

Financiado por el CDCHTA: Proyecto FA-440-08-03-B



## ESTUDIO FITOQUÍMICO Y SEMISÍNTESIS DE ALGUNOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE LA PLANTA MEDICINAL *Hesdyosmum scabrum* (RUIZ & PAV.) SOLMS

Vladimir Morocho<sup>1,2</sup>, Gianluca Gilardoni<sup>2,3</sup>, Omar Malagón<sup>2,3</sup>, Davide Gozzini<sup>2</sup>, Andrea Gandini<sup>2</sup>, Francesco Chiesa<sup>2</sup>, Alessio Porta<sup>2</sup>, Giuseppe Zanoni<sup>2</sup>, **Paola Vita Finzi**<sup>2,3</sup>, Giovanni Vidari<sup>2,3</sup>

1. Departamento de Química-Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador

2. Dipartimento di Chimica, Università di Pavia, Via Taramelli 10, 27100 Pavia, Italy

3. C.I.St.R.E., Università di Pavia, Via Taramelli 10, 27100 Pavia, Italy

### INTRODUCCIÓN

*Hesdyosmum scabrum* es una planta nativa del Ecuador conocida comúnmente como Guayusa del cerro, Granizo y Tarqui, en la medicina tradicional las hojas son empleadas en infusión para el tratamiento del dolor de estómago y los frutos son usados para preparar bebidas aromáticas (1). Es descrita en la literatura botánica con el sinónimo *Tafalla scabra* Ruiz & Pav.(2). Esta planta es característica por su dioecia, se puede decir que para este estudio se recolectó hojas con flores masculinas y hojas con flores femeninas, para confrontar el contenido de metabolitos secundarios. De la investigación bibliográfica resulta dos estudio en la composición química del aceite esencial sin distinguir la diferencia entre la dioecia de la especie (3,4). El material vegetal fue recolectada en Noviembre 2010, en el sector la Torre del cantón Saraguro en la provincia de Loja a una altura de 3038 m.s.n.m., un voucher esta depositado en el Herbario de la Universidad Técnica Particular de Loja. Siete compuestos aislados de esta especie fue reportada por los autores en la edición 2012 de este congreso(5).

### METODOLOGÍA

Del extracto de acetato de etilo de la planta con flores femeninas, obtenido según la modalidad ya descrita en la edición 2012 de este congreso, (5), han sido aislados dos sesquiterpenos por cromatografía en fase directa sobre Sílica gel, eluendo con Hexano: Acetato de etilo, según un gradiente de polaridad creciente. estos compuestos han sido caracterizados mediante espectroscopia NMR y espectrometría de masa. Además de la parte no volátil de la planta se ha obtenido dos aceites esenciales, a partir de 1000 g, uno de hojas con flores masculinas y otro con hojas de flores femeninas, por hidrodestilación. La composición de los aceites esenciales ha sido determinada y comparada mediante CG-MS y CG-FID. La conclusión del estudio de *H. scabrum*. se ha realizado la semisíntesis de dos de sies nuevos esterres aislados el año pasado y descrito en la edición del 2012 de este congreso, Con el objetivo de confirmar la estructura y obtener cantidad suficiente para efectuar ensayos biológicos.

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

Los extractos totales en diferente solvente han sido comparados por TLC, resultando los de flores femeninas y flores masculina cualitativamente similares., por esta razón, se ha decidido iniciar el estudio de las flores femeninas por la abundancia en la cantidad de los extractos. Del extracto en acetato de etilo se han aislado dos sesquiterpenos identificados como Oplodiol (fig.1) y Germacra-5,10(14)-dien-1b,4b-diol (fig.2)., comparando entre los datos espectroscópicos registrados con los datos respetados en literatura (6,7). Aunque la composición de los aceites esenciales ha sido confrontada resultando cualitativamente similares pero cuantitativamente diversa. El aceite esencial de flores masculinas presenta como mayoritarios a Germacrene D-4-ol (16,59%), d-Verbenol (14,66%), y <1,8>-cineole (13,42 %), en cambio en el aceite esencial de las flores femeninas el <1,8>- cineole (29,87%), Linalool (11,13) y Alpha pinene (10,94 %) se reporta como mayoritarios.

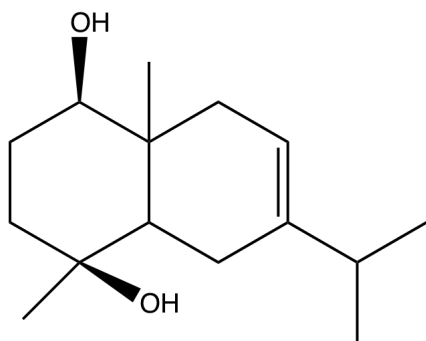


Fig. 1: Oplodiol

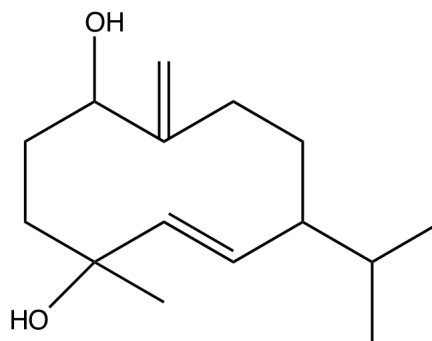


Fig. 2: Germacra-5,10(14)-dien-1b,4b-diol

## CONCLUSIONES

Se han aislado 9 compuestos no volátiles de los cuales hemos descrito 6 nuevos. Actualmente se está realizando la primera síntesis de dos compuestos nuevos. Además se ha caracterizado separadamente el aceite esencial de flores masculinas y flores femeninas, comparando la composición e identificando más de 75 sustancias volátiles.

## FINANCIAMIENTO

Gobierno del Ecuador a través de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología (SENESCYT).

## BIBLIOGRAFÍA

1. de la Torre, L.; Navarrete, H.; Muriel, P.; Macía, M. J.; Balsle, H. *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Herbario QCA & Herbario AAU. Quito & Aarhus. 2008.
2. Jorgensen, P.; Leon, S. *Catalogue of vascular plants of Ecuador*. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis. U.S.A. 1999.
3. De Feo, V.; Soria, R. U. *J. of Essential Oil-Bearing Plants* 2007, 10, 41-45.
4. Lorenzo, D.; Loayza, I.; Dellacassa, E. *Flavour and Fragrance Journal* 2003, 18, 32-35.
5. Morocho, V.; Gilardoni, G.; Gozzini, D.; Malagòn, O.; Vita Finzi, P.; Vidari, G. *Novel monoterpene esters isolated from the Ecuadorian plant Hedyosmum scabrum (Ruiz & Pav.) Solms*. XXI Congreso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina. Paestum, Italia. 2012.
6. Cheol Kowon, H.; Ro Lee, K.; *Arch Pharm Res* 2001, 24, 194-197.
7. San Feliciano, A.; Medarde, M.; Gordaliza, M.; Lucas, M.J.; *Journal of Natural Products* 1995, 58, 1059-1064.



## ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS PLANTAS ECUATORIANAS: *Piper subscutatum* C.DC. Y *Lepechinia mutica* BENTH.

Jorge Ramírez<sup>1,2</sup>, Gianluca Gilardoni<sup>1</sup>, Davide Gozzini<sup>1</sup>, Massimo Boiocchi<sup>3</sup>, Omar Malagón<sup>2</sup>, Paola Vita Finzi<sup>1</sup> y Giovanni Vidari<sup>1</sup>

1. Università degli Studi di Pavia, Dipartimento di Chimica, via Taramelli 10, 27100 Pavia, ITALIA.
2. Universidad Técnica Particular de Loja, Departamento de Química, 1101608 Loja, ECUADOR.
3. Università degli Studi di Pavia, Centro Grandi Strumenti, via Bassi 21, 27100 Pavia, ITALIA.

### INTRODUCCIÓN

*Piper subscutatum* fue recolectada en agosto de 2007 en Numbani, perteneciente a la provincia de Zamora Chinchipe al sur del Ecuador, no se reportan estudios fitoquímicos previos en esta especie. Mientras que *Lepechinia mutica*, comúnmente conocida como "casa casa" fue colectada en septiembre 2012 en Quilanga, provincia de Loja al sur del Ecuador, *L. mutica* es usada tradicionalmente para tratar afecciones musculares, dolor de cabeza y dientes (1) y también es conocida en la literatura botánica como: *Sphacele mutica* Benth. Se reportan trabajos en los que *L. mutica* ha sido estudiada solo la parte aromática sin considerar la parte no volátil.

Un voucher botánico de las dos especies ha sido depositado en el herbario de la Universidad Técnica Particular de Loja.

### METODOLOGÍA

Los extractos totales fueron obtenidos a partir de 200 gr de hojas secas de *P. subscutatum* y *L. mutica* usando EtOAc como solvente seguido con MeOH, y MeOH/H<sub>2</sub>O (7:3) por tres veces consecutivas. Los extractos totales en EtOAc, fueron sometidos a separación en fase inversa C-18 usando mezclas de solventes: MeOH-H<sub>2</sub>O en gradiente decreciente de polaridad.

Se han aislado a partir de *P. subscutatum* cinco lignanos uno de los cuales es la (-) grandisina y un diterpeno conocido llamado carnosol a partir de *L. mutica*. Se los ha caracterizado utilizando, rayos-x; espectroscopia NMR, y espectrometría de masas.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La grandisina y el carnosol han sido identificados con certeza a través del análisis cristalográfico y los otros cuatro compuestos se han hipotizado a través de análisis de <sup>1</sup>H-NMR y LC-MS, cuyas estructuras se las enlista (a. carnosol, b. grandisina), en el presente resumen (2,3,4). Estudios previos in-vitro, realizado al lignano grandisina muestra evidencias de propiedades antitumorales (5). El carnosol, evidencia propiedades antioxidantes y anticarcinogénico y ha sido aislado previamente a partir de *rosmarinus* (6).

### CONCLUSIONES

Hasta ahora hemos aislado un lignano y un diterpeno conocidos y cuatro lignanos los mismos que se encuentran en fase de confirma. La grandisina aislada muestra una nueva conformación respecto a la estructura cristalina de aquella conocida.

### AGRADECIMIENTOS

La investigación es financiada por el gobierno del Ecuador a través del SENESCYT, Universidad Técnica Particular de Loja y CISTRE.

## BIBLIOGRAFÍA

Malagón O, Vila R, Iglesias J, Zaragoza T, Cañigueral S. 2003. Composition of the essential oils of four medicinal plants from Ecuador. *Flavour and fragrance Journal*. 18: 527-531

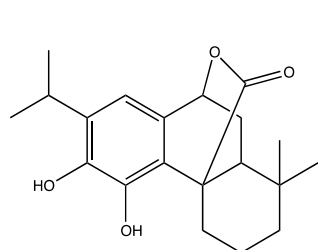
Saad J.M., Soepadamo E., Fang X.-P., McLaughlin J.L., Fanwick P.E. 1991. (-)-Grandisin from *Cryptocarya crassinervia*. *J.Nat. Prod.* (54):1681-1683

Gajhede M, Anthoni U, Nielsen PH, Pedersen EJ, Christophersen C. 1990. Carnosol. Crystal structure, absolute configuration, and spectroscopic properties of a diterpene. *Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research*. 20(2):165-171

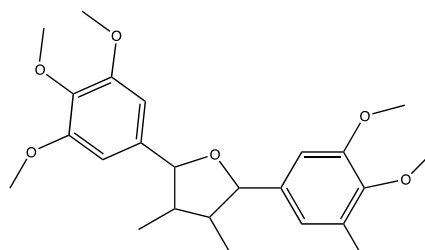
Martins R, Lago J, Albuquerque S, Kato M. 2003. Trypanocidal tetrahydrofuran lignans from inflorescences of *Piper solmsianum*. *Phytochemistry* (64): 667-670.

Valadares et al., 2009. Cytotoxicity and antiangiogenic activity of grandisin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 61:1709-1714

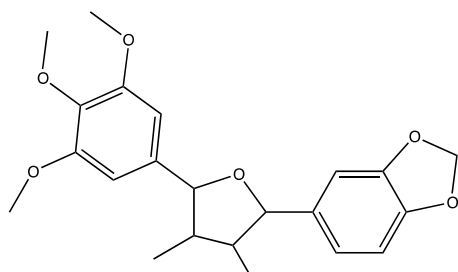
Lo AH, Liang YC, Lin-Shiau SY, Ho CT, Lin JK. 2002. Carnosol, an antioxidant in rosemary, suppresses inducible nitric oxide synthase through down-regulating nuclear factor-kappaB in mouse macrophages. *Carcinogenesis* 23(6): 983-9.



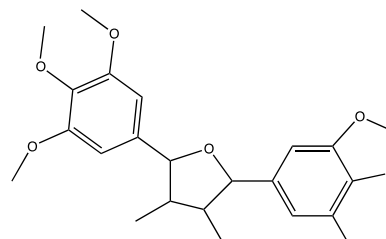
a.



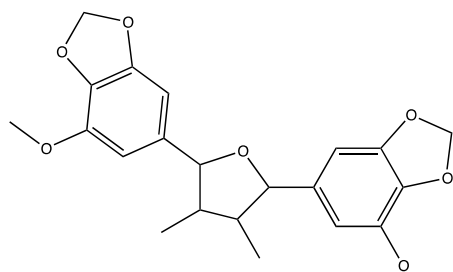
b.



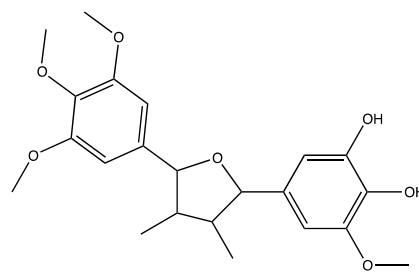
c.



d.



e.



f.



## ANÁLISIS DE ALCALOIDES EN ESPECIES DE *Passiflora* POR TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS Y ELETROFORÉTICAS.

Geison M. Costa<sup>1,2</sup>, Andressa C. Gazola<sup>2</sup>, Silvana M. Zucolotto<sup>3</sup>, Leonardo Castellanos<sup>1</sup>, Freddy A. Ramos<sup>1</sup>, Flávio H. Reginatto<sup>2</sup>, Eloir P. Schenkel<sup>2</sup>

1. Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia; geison\_costa@yahoo.com.br
2. Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brazil
3. Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil

### INTRODUCCIÓN

Las especies de *Passiflora* están ampliamente distribuidas en toda Latinoamérica, con reportes etnofarmacológicos sobre su uso como sedante y tranquilizante. Diversos estudios han descrito actividades neurofarmacológicas de esas especies (REGINATTO et al., 2006; CASTRO et al., 2007; LI et al., 2011). Entre los metabolitos más descritos para las especies del género están los alcaloides del tipo harmano, y que incluso ya fueron descritos como posibles responsables por esas actividades (LUTMOSKI; MALEK; RYBACKA, 1975). El objetivo de este estudio fue evaluar, por medio de metodologías por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (CLAE), Cromatografía Líquida de Ultra Eficiencia (CLUE) y Electroforesis Capilar (EC) la composición química de los extractos acuosos de las hojas de *Passiflora alata*, *P. quadrangularis*, *P. tripartita* var. *mollissima* y *P. bogotensis*, con énfasis en alcaloides.

### METODOLOGÍA

Hojas secas y molidas de las especies mencionadas fueron extraídas, separadamente, por infusión acuosa (1:10,m/v), durante 10 minutos, de acuerdo con el uso en la medicina tradicional. Los extractos crudos fueron posteriormente filtrados y liofilizados. En los análisis por CLAE y CLUE se utilizaron columnas  $C_{18}$  (250x4,6mm;5 $\mu$ m y 100 x 2,9 mm; 1,8  $\mu$ m, respectivamente), ambos con un mismo sistema de gradiente de fase móvil de acetonitrilo, metanol y buffer fosfato de sodio (50mM) y detección a 245nm. En los análisis por EC se utilizó un capilar de sílica fundida (60,5 cm, 52,0 cm efectivos; 50 $\mu$ m), y como electrolito de corrida se empleó acetato de amonio (100mM, 50% ACN, pH 4,0), con detección a 245 nm.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante los análisis cualitativos por las diferentes metodologías no se observó la presencia de alcaloides del tipo harmano en ninguno de los extractos analizados. En el análisis cuantitativo por medio de una curva de calibración del alcaloide harmano, por CLUE y EC, mostró que los extractos analizados no poseen alcaloides del tipo harmano en niveles superiores a 0,0187 ppm.

### CONCLUSIÓN

Los análisis realizados sugieren que en las especies evaluadas no se encuentran alcaloides de tipo harmano en niveles superiores a 0,0187 ppm, representando un aporte a la caracterización química de especies latinoamericanas de *Passiflora* usadas en la medicina popular.

### FINANCIAMIENTO

CAPES y CNPq (Brazil); DIB-UNAL (Colombia).

### BIBLIOGRAFÍA

1. Castro, P. C. F.; Hoshino, A.; Da Silva, J. C. ; Mendes, F. R. Possible anxiolytic effect of two extracts of *Passiflora quadrangularis* L. in experimental models. *Phytotherapy Research*. v. 21, n. 5, p. 481-484, 2007.
2. Li, H.; Zhou, P.; Yang, Q.; Shen, Y.; Deng, J.; Li, L.; Zhao, D. Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* 'edulis' and *Passiflora edulis* form *flavicarpa*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.133, p.1085-1090, 2011.
3. Lutomski, J.; Malek, B.; Rybacka, L. Pharmacochemical investigation of the raw materials from *Passiflora* genus. II. The pharmacochemical estimation of juices from the fruits of *Passiflora edulis* and *Passiflora edulis* form *flavicarpa*. *Planta Medica*, v. 27, p. 112-21, 1975.
4. Reginatto, F.; Paris, F.; Petry, R. D.; Quevedo, J.; Ortega, G. G.; Gosmann, G.; Schenkel, E. P. Evaluation of anxiolytic activity of spray dried powders of two south Brazilian *Passiflora* species. *Phytotherapy Research*, v. 20, p. 348-351, 2006.



## AISLAMIENTO DE SEIS FLAVONOIDES C-GLICÓSIDOS DE *Passiflora bogotensis* BENTH. POR CROMATOGRAFIA CONTRACORRIENTE DE ALTA VELOCIDAD CON ELUCIÓN EN GRADIENTE

Geison M. Costa<sup>1,2</sup>, Andressa C. Gazola<sup>2</sup>, Leonardo Castellanos<sup>1</sup>, Flávio H. Reginatto<sup>2</sup>, Freddy A. Ramos<sup>1</sup>, Eloir P. Schenkel<sup>2</sup>

1. Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia; geison\_costa@yahoo.com.br

2. Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brazil

### INTRODUCCIÓN

Especies de *Passiflora* son ampliamente distribuidas en toda Latinoamérica, sus hojas son empleadas en la medicina popular en la preparación de infusiones, con propósito calmante y sedante. Flavonoides C-glicósidos han sido descritos como unos de los principales componentes de esas especies. No obstante, su aislamiento en columnas cromatográficas preparativas no es fácil debido, principalmente, a problemas de adsorción irreversible en los soportes sólidos. El objetivo de este estudio fue aislar e identificar flavonoides a partir del extracto acuoso de hojas de *P. bogotensis* por Cromatografía Contracorriente de Alta Velocidad (HSCCC).

### METODOLOGIA

Hojas secas y molidas de *P. bogotensis* fueron extraídas por infusión acuosa (1:10,m/v), durante 10 minutos, de acuerdo con el uso en la medicina tradicional. Los extractos crudos fueron posteriormente filtrados y liofilizados. El extracto acuoso crudo fue inyectado directamente en el equipo de HSCCC, previamente equilibrado con el sistema de solventes acetato de etilo:butanol:agua, y se generó un gradiente con el incremento de butanol en el sistema. Los flavonoides aislados fueron identificados por HPLC-DAD, LC-MS y NMR.

### RESULTADOS

Seis flavonoides, reportados por primera vez para esta especie, fueron aislados en un único análisis con una pureza mayor al 81%. La separación permitió el aislamiento de dos flavonoides nuevos (apigenina-6-C- $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo-(1 $\rightarrow$ 2)-(6''-O-acetyl)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo y luteolina-6-C- $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo-(1 $\rightarrow$ 2)-(6''-O-acetyl)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo) y cuatro flavonoides C-glicósidos conocidos (isovitexina, isoorientina, isovitexina-2''-O-ramnosídeo, isoorientina-2''-O-ramnosídeo).

### CONCLUSIONES

En este trabajo, fue aplicada la técnica de HSCCC con elución en modo gradiente que permitió, en un único análisis por medio de inyección directa del extracto crudo, el aislamiento exitoso de seis flavonoides, dos de ellos reportados por primera vez en la naturaleza.

### FINANCIAMIENTO

CAPES y CNPq (Brazil); DIB-UNAL (Colombia).



## PHYTOCHEMICAL PROFILING OF COMMERCIAL AND CULTIVATED HIGHBUSH BLUEBERRY FRUITS FROM COLOMBIA

Jessica K. Prada, Luisa L. Orduz, Ericsson D. Coy-Barrera

Bioorganic Chemistry Laboratory, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Cajicá-Cundinamarca, Colombia; ericsson.coy@unimilitar.edu.co

### INTRODUCTION

Highbush Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) is a shrub fruit species belonging to the Ericaceae family. It is characterized by fruits valued for their flavor, being also very renowned for their content of anthocyanins (1). Hence, its fruits have been an objective in several studies (2), but there is a lack of chemical information related to the fruits commercialized and cultivated in Colombia. However, several varieties of *V. corymbosum* fruits are cultivated in different regions throughout Colombia without any control of chemical composition and/or biological potency. Therefore, the present research shows the chemical characterization of commercial and cultivated samples of this plant in Colombia by comparison of their total phenolic, flavonoid, and anthocyanin content (TPC, TFC, and TAC, respectively) and HPLC-based anthocyanin profiles through statistical analysis.

### METHODOLOGY

Several samples of *V. corymbosum* fruits were purchased in local supermarkets (Commercial samples) and a local berries crop. Fresh samples were crushed and extracted under previously optimized extraction conditions (data not shown). Once extraction time was reached, mixtures were separately filtered and evaluated for TPC, TFC, and TAC, following standard procedures (3). In addition, obtained extracts were analyzed by means of HPLC-UV-DAD employing a validated method for anthocyanins. All data were compared by statistical analysis.

### RESULTS AND DISCUSSION

Total contents per gram of fresh material for phenols, flavonoids and anthocyanins in samples were 50-300 mg gallic acid equivalents, 5-16 mg quercetin equivalents, 0.5-1 mg cyanidin 3-glucoside equivalents, respectively. Commercial fruits were those that showed the best results in total phenol, flavonoid and anthocyanin contents. LC-based profiles (520nm) showed at least 12 compounds (two related to cyanidin 3-glucoside and delphinidin 3-glucoside). Major constituents resulted in those with anthocyanin structure such as it was evidenced by characteristic UV spectra to cyanidin-related derivatives. Although the number of anthocyanins was found to be identical into all LC profiles, the relative area of each chromatographic peak exhibited clear differences among samples. Principal Component Analysis exhibited good correlations between LC profiles and total contents.

### CONCLUSIONS

A variability of total contents between samples was evidenced, indicating the importance of quality controlling to cultivar conditions of this specie in order to offer and ensure the better medicinally-attributed properties. However, the LC-based profiles appeared to be similar, indicating that distinctive differences are related to the total contents. Our results constitute the first report on chemical analysis of *V. corymbosum* fruits cultivated and commercialized in Colombia with the aim to highlight the requirement for authentication and quality controlling on these materials in our country.

### FUNDING

Authors thank to MU Nueva Granada for the financial support (Project PIC CIAS-1318).

### REFERENCES

1. Abreu OA, Cuellar A, Prieto S. 2008. *Rev. Cubana Plant. Med.* 13:1-11.
2. Müller D, Schantz M, Richling E. 2012. *Journal of Food Science.* 77:C340-C345.
3. Bernal F, Cuca L, Yamaguchi L, Coy E. 2013. *Rec. Nat. Prod.* 7:152-156.





## INFLUENCIA DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UN EXTRACTO DE CÁLCICES DE *Physalis peruviana*

María Isabel Cardona Paredes<sup>1</sup>, Luis Fernando Ospina Giraldo<sup>2</sup>, Diana Marcela Aragón Novoa<sup>1,2</sup>

1. Grupo de Investigación en Tecnología de Productos Naturales, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 # 45 – 03 Bogotá, Colombia; dmaragonn@unal.edu.co

2. Grupo Principios Bioactivos de Plantas Medicinales, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

### INTRODUCCIÓN

La uchuva *Physalis peruviana* es el fruto más exportado desde Colombia, en lo últimos años el interés comercial en esta fruta ha aumentado debido a sus propiedades terapéuticas<sup>1</sup>. Los cálices de uchuva *Physalis peruviana* son utilizados en medicina popular por sus propiedades medicinales<sup>2</sup>.

### METODOLOGÍA

Los cálices de *Physalis peruviana* fueron recolectados en el municipio de Granada (Cundinamarca), éstos fueron seleccionados manualmente y secados a 45°C en una estufa de aire circulante. El material seco fue molido y sometido a extracción por percolación variando condiciones del proceso, para lo cual se aplicó un diseño experimental tipo RSM.

Las variables evaluadas fueron:

Tiempo (48 – 72 hrs)

Luz – oscuridad

Solvente de extracción (Etanol 96 % o Etanol 70%).

Como variables respuestas se evaluó: el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y la capacidad de captación del radical DPPH como actividad antioxidante.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diseño experimental planteado sugirió la realización de 12 procesos extractivos diferentes en donde se combinaron las variables a estudiar. Respecto al contenido de fenoles totales, la mayor cantidad encontrada fue de 20,87 mg ácido gálico/ g extracto en el extracto obtenido con 72 horas de percolación, etanol al 70% como solvente de extracción en oscuridad. Teniendo en cuenta la actividad antioxidante reportada para los compuestos fenólicos, se esperaría una correlación con su actividad antioxidante. Sin embargo, hubo una pequeña discrepancia pues la mayor inhibición frente al radical DPPH 69,2% se obtuvo para el proceso extractivo con 48 horas, etanol al 70% y presencia de luz.

### CONCLUSIONES

La mayor cantidad de fenoles totales se obtuvo con etanol al 70% en el proceso de extracción, al igual que el mayor porcentaje de inhibición de actividad de DPPH, los otros factores no fueron determinantes para las variables respuesta evaluadas. Lo anterior sugiere que llevar a cabo el proceso de extracción con etanol al 70% parece ser el factor clave para obtener el mayor contenido de fenoles totales y la mayor capacidad antioxidante mientras que el tiempo de percolación y la presencia de luz no lo afectan.

### BIBLIOGRAFIA

<sup>1</sup>S. Sanabria, Situación actual de la uchuva en Colombia, *Redalyc*, 221 (2005).

<sup>2</sup>L. Franco, G. Matiz, J. Calle, R. Pinzón, L. Ospina, Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L, *Biomédica*.27,110 (2007).



## AVANCES EN EL ESTUDIO DE COMPUESTOS CITOTÓXICOS AISLADOS DE LA *Annona pittieri* (ANNONACEAE)

Jonathan Parra<sup>1</sup>, Christian De Ford<sup>2</sup>, Víctor Castro<sup>3</sup>, Irmgard Merfort<sup>2</sup>, Renato Murillo<sup>3</sup>

1. Instituto de Investigaciones Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica; jonathan.parra@ucr.ac.cr
2. Departamento de Biología Farmacéutica y Biotecnología, Instituto de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Albert-Ludwig de Freiburg
3. Centro de Investigaciones en Productos Naturales, Universidad de Costa Rica

### INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 30 años, entre el 20% y el 50% de los nuevos agentes farmacológicos aprobadas por la Agencia de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de América corresponden a productos naturales o a moléculas diseñadas a partir de ellos. A través de la historia, este tipo de compuestos han figurado como la principal fuente para el descubrimiento de agentes quimioterapéuticos para el tratamiento del cáncer.

### METODOLOGÍA

Se ejecutó el aislamiento y purificación de metabolitos secundarios de hojas y troncos de *Annona pittieri* mediante extracción con disolventes orgánicos, así como fraccionamiento y purificación por técnicas cromatográficas. Los compuestos puros aislados se caracterizaron estructuralmente utilizando resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas. A los compuestos aislados en cantidades suficientes se les cuantificó su actividad citotóxica *in vitro* mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A la fecha se han identificado estructuras fenólicas, alcaloides y acetogeninas. Un compuesto puro tipo acetogenina fue analizado frente líneas celulares de leucemia linfocítica aguda CCRF-CEM, leucemia linfocítica aguda resistente a doxorubicina ADR5000 y carcinoma pancreático metastásico MIA PaCa-2; obteniendo valores de IC<sub>50</sub> de 8.95 μM, 3.09 μM y 23.90 μM, respectivamente. Este compuesto presentó un perfil farmacológico interesante al tener mayor actividad frente a líneas celulares resistentes a doxorubicina.

### CONCLUSIÓN

De la *Annona pittieri* se pudieron aislar compuestos bioactivos con actividad citotóxica relevante, por lo cual es importante continuar con el aislamiento de más compuestos y la comprensión de sus mecanismos de acción.

### FINANCIADORES

Este trabajo fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y forma parte del proyecto "Búsqueda de productos naturales con actividades citotóxicas".

### BIBLIOGRAFÍA

1. Barbalho, S., Alvares, R., Vasques, F., da Silva, M., Cincotto, P., Landgraf, E., Cressoni A., Groppo M. *Annona sp*: Plants with Multiple Applications as Alternative Medicine - A Review. *Current Bioactive Compounds*, 8(3), 277-286.
2. Cragg, G. M., Grothaus, P. G., & Newman, D. J. (2009). Impact of natural products on developing new anti-cancer agents. *Chemical Reviews*, 109(7), 3012-43.
3. Newman, D. J. (2008). Natural products as leads to potential drugs: an old process or the new hope for drug discovery? *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(9), 2589-99.
4. Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), 311-35.



## DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DEL TÉ VERDE (*Camellia sinensis*) CONTRA LOS AGENTES POTENCIALMENTE PATÓGENOS *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans* Y *Aspergillus niger*

Andreína Mora<sup>1</sup>, Jonathan Parra<sup>2</sup>, José M. Chaverri<sup>2</sup>, María Laura Arias<sup>1</sup>

1. Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

2. Instituto de Investigaciones Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica; jonathan.parra@ucr.ac.cr

### INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios demuestran la actividad bacteriostática del té verde (*Camellia sinensis*) y su potencial aplicación como preservante en la industria alimentaria. El uso del té verde en la industria alimentaria, como aditivo o como alimento funcional, puede generar alternativas naturales de interés económico y social para Costa Rica. Para ello, es necesario generar información sobre la actividad biológica de los productos de té verde comercializados en Costa Rica.

### METODOLOGÍA

Con el fin de determinar la capacidad antimicrobiana del té verde contra agentes potencialmente patógenos, se probaron tres solventes orgánicos diferentes, incluyendo metanol, acetona y etanol al 50% v/v, para determinar el solvente con mayor capacidad de extracción de compuestos fenólicos a partir de muestras de té verde distribuidas comercialmente en San José, Costa Rica. Para tal efecto se utilizó el ensayo con el reactivo Folin-Ciocalteu, y se determinó que el etanol al 50% v/v fue el solvente que extrajo la mayor cantidad de compuestos fenólicos. A través de esta misma técnica, se cuantificó el contenido total de compuesto fenólicos de las 10 marcas comerciales de té verde analizadas.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto antimicrobiano fue determinado a 10 marcas comerciales de té verde en extracto y en infusión al 10 %, contra cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger* y se comparó con el efecto dado por el té verde (*Camellia sinensis*) de origen chino, considerado como estándar de comparación. Se determinó un efecto inhibitorio a *Listeria monocytogenes* en la concentración de 10.5 mg/mL y en la dilución  $10^{-1}$  en 7 de las 10 marcas analizadas; este efecto no fue observado en las diluciones mayores ni en las infusiones de las diferentes muestras. El efecto del té verde así como del estándar de comparación fue nulo contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*.

### CONCLUSIONES

Se demostró que el té verde que se comercializa en el área metropolitana de San José, Costa Rica posee actividad inhibitoria ante *Listeria monocytogenes* a una concentración de 10.5mg/mL, sin diferencias significativas entre las diferentes marcas comerciales.

## FINANCIADORES

Este trabajo fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y forma parte del proyecto "Actividad antioxidante y antimicrobiana del té verde que se expende en el área metropolitana de San José, Costa Rica".

## BIBLIOGRAFÍA:

1. Chiu, P; & Shiu Lai, L. (2010). Antimicrobial activities of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum coatings containing green tea extracts in fruit-based salads, romaine hearts and pork slices. *International Journal of Food Microbiology*, 139, 23–30
2. Kumudavally, K.V; Phanindrakumar, H.S; Tabassum, A; Radhakrishna, K; & Bawa, A.S. (2008) Green tea – A potential preservative for extending the shelf life of fresh mutton at ambient temperature ( $25 \pm 2$  °C). *Food Chemistry*, 107, 426–433
3. Tzung Hsun, T., Tsung Hsien, T., You Chia, C., Chi Wei, L., & Po Jung T. (2008). In vitro antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. *Food Chemistry*, 110, 859–864, 859-864.



## CONTENIDO DE ACIDO ÚSNICO EN LOS LÍQUENES *Xanthoparmelia tasmánica* Y *Flavopunctenia flaventior*

Elena Alicia Córdor Cuyubamba, Diana Martino Cruz

Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ciencias, Escuela Profesional de Química, Lima-Perú

### INTRODUCCIÓN

Los líquenes son seres complejos cuyos cuerpos vegetativos (talos) son el resultado de asociaciones simbióticas entre un hongo heterótrofo (micobionte) y una alga (fotobionte), que es el que sintetiza los azúcares necesarios para el metabolismo, liberando oxígeno en el proceso. De este estrecho contacto físico, interacción mutualista, se originan los talos líquénicos estables con morfología, anatomía, fisiología, genética y ecología específica.

En la asociación líquénica el grado de participación de los dos organismos no es tan fundamental, lo importante es que conduce a la formación de organismos capaces de prosperar en medios muy diversos de la naturaleza, motivo por el cual su distribución geográfica es muy amplia y ocurre en mayor diversidad de ambientes, lo cual representa una gran ventaja con respecto a otros organismos.

Dentro de los metabolitos secundarios\* que se encuentra en los líquenes, lo constituyen los llamado compuestos líquénicos, de derivados fenólicos. Todos ellos responden a cuatro estructuras, bien determinadas, que se conocen con los nombres de dépsidos, depsidonas, dibenzofuranos y ácidos úsnicos, siendo el ampliamente distribuido en los líquenes el (+) ácido úsnico

### METODOLOGÍA

Las muestras de líquenes de *Xanthoparmelia tasmánica* y *Flavopunctenia flaventior* fueron colectadas entre en el distrito de Muquiyayuyo del departamento de Junín-Perú (3 200 msnm). Se detectó los constituyentes líquénicos a través de pruebas cualitativas.

La determinación cuantitativa del ácido úsnico en los líquenes se realizó usando el método espectrofotométrico UV-V. Para ello se procedió la extracción de 1 g de muestra líquénica en cloroformo en un equipo soxhlet. El extracto clorofórmico se concentró y se llevó a un volumen de 100 mL, a partir de la cual se obtuvieron soluciones de concentraciones diferentes, para realizar la determinación en el equipo UV- Visible a una longitud de onda de 284 nm.

Previamente se realizó la curva de calibración con patrón de ácido úsnico de 1ppm, 5ppm y 10 ppm.

### RESULTADOS

El contenido de ácido úsnico para las muestras líquénicas de *Xanthoparmelia tasmánica* y *Flavopunctenia flaventior* se realizaron por el método espectrofotométrico por tres veces obteniéndose un contenido promedio de 1,72 y 1,36 %, respectivamente.

Metabolitos secundarios o productos naturales.- Se refiere a los compuestos orgánicos de estructura variada, presentes en los organismos vivos, que tienen una distribución restringida y característica a determinada especie. Ejemplos: alcaloides, taninos, quinonas, triterpenos y esteroides, leucoantocianidinas, catequinas, flavonoides, saponinas, etc.

Metabolitos primarios.- Productos del metabolismo general y de amplia distribución en plantas y animales. Ejemplos: carbohidratos, aminoácidos y proteínas, mucílagos, ceras, etc.

## CONCLUSIONES

Los líquenes estudiados, *Xanthoparmelia tasmánica* y *Flavopunctenia flaventior* contienen ácido úsnico en un 1,72% y 1,36 %, respectivamente.

## AGRADECIMIENTO

Esta investigación se realizó gracias al apoyo económico del Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Barreno, E., Perez-Ortega, S., Biología de los líquenes, Ed. KRK, 2003, pág. 65-66.
2. Chávez, J., Programa conjunto INBio-SINAC, 2005, págs. 2-4.
3. Begg, W., J. Elix and A. Jones, Tetrahedron Letters, 12, 1047-1050 (1978). "Nonacyclic amides from lichens of the genus *Xanthoparmelia*"
4. Begg, W., D. Chester and J. Elix, Australian Journal Chemistry. 32, 927-929 (1979). "The structure of conorlobaridone and conloxodin. New depsiones from the lichen *Xanthoparmelia xanthosorediata*".



## ASLAMIENTO BODIRIGIDO DE UN DITERPENOS CON ACTIVIDAD ANTI-HERPÉTICA DE LA RAÍZ DE *Jatropha dioica*

David Silva Mares, Ernesto Torres López, Ana María Rivas Estilla, Paula Cordero Pérez, Noemí Waksman de Torres, **Verónica Mayela Rivas Galindo**

Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Madero s/n Colonia Mitras Centro, CP 64460, Monterrey Nuevo León. Email: vmrg0324@yahoo.com.mx

El Virus del Herpes Simplex tipo 1 (VHS-1) y tipo 2 (VHS-2) son patógenos humanos de la familia Herpesviridae que causan infecciones recurrentes del sistema nervioso localizadas en labios, en ojos, en la membrana mucosa de la cavidad oral y en genitales. En la actualidad, solo unos cuantos fármacos están disponibles para el tratamiento de infecciones por VHS y recientemente se ha observado un aumento el aislamiento de VHS drogo-resistentes en pacientes inmuno-comprometidos.<sup>1</sup> Con respecto a la actividad antiviral en plantas del género *Jatropha*, se reportó que el extracto acuoso de *J. curcas* inhibe fuertemente el efecto citopático inducido por VIH con una baja citotoxicidad.<sup>2</sup> La planta *Jatropha dioica* ha sido utilizada desde tiempos prehispánicos en México como tratamiento en afecciones bucales. Debido a lo anterior y en base a criterios quimiotaxonómicos y etnofarmacológicos,<sup>3</sup> se llevó a cabo el aislamiento biodirigido de compuestos con actividad contra VHS-1 y VHS-2 a partir del extracto hidroalcohólico de *J. dioica*. La citotoxicidad se evaluó *in vitro* mediante el método de Mosmann y la actividad *in vitro* contra VHS-1 y VHS-2 mediante el método de reducción de placas virales. Un componente intrínseco de actividad antiviral, es la determinación del índice de selectividad (IS). El IS del extracto hidroalcohólico de *J. dioica*, se calculó mediante la relación de  $CC_{50}/IC_{50}$ , obteniéndose valores de 2.23 y 1.72 para VHS-1 y VHS-2 respectivamente. El extracto fue posteriormente sometido a una extracción líquido-líquido con el fin de obtener fracciones de diferente polaridad (hexano, acetato de etilo, butanol y agua). El extracto diferencial de hexano mostró una actividad antiviral significativa de 48 %, con IS de 2.94 y 3.30 para VHS-1 y VHS-2 respectivamente. A partir de este extracto se aisló un compuesto tipo diterpeno (recuperación de 148 mg) por medio de cromatografía en columna flash en gel de sílice. Se analizó su pureza por HPLC y TLC, y se identificó por RMN y EM como riolozatriona de acuerdo a los datos previamente reportados por Domínguez en 1980.<sup>4</sup> La riolozatriona mostró una  $IC_{50}$  de 66  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para ambos virus y una  $CC_{50}$  de 384  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $\pm 1.9$ ). El IS para la riolozatriona se determinó en 5.8 para ambos virus. No se encontraron reportes del aislamiento de la riolozatriona en otras especies del género *Jatropha* o de cualquier otra planta. Este es el único diterpeno reportado con este tipo estructural. Este es el primer reporte de actividad antiviral de la riolozatriona y de *J. dioica*.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Bacon, T. H., Levin, M. J., Leary, J. J., Sarisky, R. T., Sutton, D. *Clinical Microbiology Reviews* 2003, 16, 114-128.
2. C. Auvin, C. Baraguey, A. Blond, F. Lezenven, J.-L. Pousset, B. Bodo. *Tetrahedron Letters*, 1997, 38, 2845-2848.
3. Nolkemper S, Reichling J, Stintzing FC, Carle R, Schnitzler P. *Planta Med* 2006, 72, 1378-82.
4. Dominguez, X. A., Cano C. G., Franco, R., Villarreal, A. M., Watson, W. H., Zabel, V. *Phytochemistry* 1980, 19, 2478.



## AISLAMIENTO BODIRIGIDO DE UN COMPUESTO CON ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA A PARTIR DE *Turnera diffusa*

Cecilia Delgado Montemayor<sup>1</sup>, Ricardo Salazar Aranda<sup>1</sup>, Jonathan Pérez Meseguer<sup>1</sup>, Paula Cordero Pérez<sup>1,2</sup>, Noemí Waksman de Torres<sup>1</sup>

1. Departamento de Química Analítica, Facultad de Medicina Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Madero y Dr. Aguirre Pequeño Col. Mitras Centro s/n .Monterrey, N.L. México. C.P. 64460; ceciliadmontemayor@gmail.com
2. Unidad de Hígado, Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Madero y Dr. Aguirre Pequeño Col. Mitras Centro s/n .Monterrey, N.L. México. C.P. 64460

### INTRODUCCIÓN

La OMS estima que el 46% de las muertes en general son debidas a enfermedades crónicas; en 2010 la Secretaría de Salud publicó que las enfermedades hepáticas fueron la 5° causa de mortalidad mientras que en 1990 estaban ubicadas en el 9° lugar.(1)

Estudios recientes han correlacionado la obesidad con las enfermedades hepáticas (2). Esto es importante debido a que México es el país número uno en sobrepeso según datos de la FAO, por lo que las enfermedades hepáticas serán una importante causa de morbi-mortalidad en nuestro país en un futuro cercano.

Una alternativa que ha demostrado ser una excelente fuente de nuevos fármacos es la medicina herbal. En México hay más de 4500 plantas medicinales pero de la gran mayoría no existen estudios científicos que sustenten su acción. Existen pocos reportes de plantas mexicanas utilizadas para el tratamiento de las afecciones hepáticas; en uno de ellos se estudiaron los extractos metanólicos de cuatro plantas de región noreste de México obteniendo resultados promisorios.(3)

Una de las plantas activas fue la parte aérea de Damiana (*Turnera diffusa*) que pertenece al género Turneraceae, es un arbusto que crece en regiones subtropicales de América y África, se ha reportado su actividad antioxidante, y el aislamiento de un número importante de flavonoides (4),(5). Es una planta de amplio uso medicinal en México; debido a esto, se consideró importante conocer el o los compuestos responsables de su actividad hepatoprotectora.

### METODOLOGÍA

El ensayo de hepatoprotección para el aislamiento se realizó en la línea celular HepG2, con CCl<sub>4</sub> como agente inductor de daño y silibinina como control positivo. Para medir el nivel de daño generado se cuantificó la enzima AST en el sobrenadante. Se determinó la citotoxicidad con la prueba de MTT.

### RESULTADOS

Se eliminaron las clorofilas del extracto metanólico de damiana por medio de extracción en fase sólida con un cartucho C-18; se obtuvieron las fracciones con 50, 70 y 100% MeOH. La fracción 50% MeOH que resultó la mejor en el ensayo de hepatoprotección, se sometió a una VLC que se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt, AcOEt:MeOH y MeOH. La fracción de AcOEt:MeOH resultó la más activa en el ensayo de hepatoprotección y se seleccionó para seguir con el aislamiento.

Esta fracción se purificó por CCC (Cromatografía Contracorriente) hasta obtener un compuesto puro que fue identificado por RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C como Luteolin 8-C-β-[6-deoxy-2-O-(α-l-rhamnopyranosyl)-xylo-hexopyranos-3-uloside]. La CC<sub>50</sub> para este compuesto fue >500 µg/mL, la actividad antioxidante presentada como CE<sub>50</sub> fue de 4.76 µg/mL y la actividad hepatoprotectora resultó ser mejor que la silibinina en un 75%.



## CONCLUSIONES

En base a este resultado se concluye que se obtuvo un compuesto a partir de Damiana con una actividad hepatoprotectora mejor a la de la silibinina en un modelo in-vitro en las células HepG2 y el compuesto no es citotóxico. Como perspectiva tenemos aislar otros compuestos de la planta, que pudieran ser también hepatoprotectores, así como probar la actividad del compuesto aislado en otros modelos, ya sean rebanadas de hígado o modelos murinos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bustíos C et al. Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es-Salud. Rev Gastroenterol Perú, 2007. Vol.27: 238-245
2. Hart CL et al. Obesity, overweight and liver disease in the Midspan prospective cohort studies. International Journal of Obesity, 2010 (34): 1051-1059
3. Torres-González Liliana et al. Protective effect of four Mexican plants against CCl<sub>4</sub>-induced damage on the Huh7 human hepatoma cell line, 2011, Vol 10 No.1: 73-79
4. Pérez-Meseguer Jonathan et al. Development and Validation of an HPLC-DAD Analytical Procedure for Quality Control of Damiana (*Turnera diffusa*), Using an Antioxidant Marker Isolated from the Plant. Journal of AOAC International 2010. Vol.93 No.4 (1161-1168)
5. Zhao Jianping et al. Phytochemical Investigation of *Turnera diffusa*. Journal of Natural Products, 2007. 70(289-292)

## AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por la beca posgrado para CDM y apoyo Proyecto Investigación Ciencias Básicas No.180997 y PAICYT, UANL, CN645-11



## ASLAMIENTO BIODIRIGIDO DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES Y HEPATOPROTECTORES DE *Juglans mollis*

Jonathan Pérez Meseguer<sup>1</sup>, Valeria Arizpe Rodríguez<sup>1</sup>, Cecilia Delgado Montemayor<sup>1</sup>, Ricardo Salazar Aranda<sup>1</sup>, Paula Cordero Pérez<sup>1,2</sup>, Noemí Waksman de Torres<sup>1</sup>

1. Departamento de Química Analítica, Facultad de Medicina Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Madero y Dr. Aguirre Pequeño Col. Mitras Centro s/n .Monterrey, N.L. México. C.P. 64460; jonathan.perezms@uanl.edu.mx

2. Unidad de Hígado, Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Madero y Dr. Aguirre Pequeño Col. Mitras Centro s/n .Monterrey, N.L. México. C.P. 64460

### INTRODUCCIÓN

Los hepatocarcinomas y otras hepatopatías como la cirrosis hepática están relacionadas en su génesis con el daño celular a causa de procesos oxidativos. Además, las opciones de tratamiento para la cirrosis, hígado graso y hepatitis crónica son a menudo limitadas en su eficacia, corren el riesgo de efectos adversos, y resultan a menudo demasiado costosas, especialmente para países en desarrollo. Hoy se conoce la estrecha relación que existe entre la actividad antioxidantes y la capacidad de retardar el daño en células hepáticas por parte de agentes químicos externos.

Recientemente nuestro grupo de trabajo, demostró, mediante estudios *in vitro*, que los extractos hidroalcohólicos de algunas plantas de la región Noreste de México cuya actividad antioxidante ya había sido reportada, presentan a su vez actividad hepatoprotectora, entre las cuales está *Juglans mollis*. Esta planta no resultó tóxica sobre las células Huh7, además presentó actividad antioxidante por el método de reducción del difenil-picril-hidracilo (DPPH), particularmente los extractos de corteza.

### METODOLOGÍA Y RESULTADOS

Del extracto metanólico de corteza de *J. mollis* se obtuvieron extractos de de hexano, acetato de etilo y butanol. Se determinó la actividad antioxidante de los extractos de acuerdo a la reducción del radical DPPH por el método cuantitativo de UV-Vis. El extracto metanólico presentó una  $CI_{50}$  de  $2.58 \pm 0.24$  ug/mL y los extractos de hexano, acetato de etilo y butanol de  $75.75 \pm 9.64$  ug/mL,  $2.12 \pm 0.36$  ug/mL y  $3.08 \pm 0.35$  ug/mL, respectivamente. A su vez se determinó la actividad hepatoprotectora de los extractos mediante ensayo *in vitro* con células HepG2 dañadas con tetracloruro de carbono y tomando la cuantificación de enzima AST como indicador del daño celular, siendo los extractos de AcOEt ( $28.5 \pm 0.70$  UI AST) y BuOH ( $25.5 \pm$  UI AST) los que presentaron una buena actividad hepatoprotectora respecto a la del control de hepatoprotección de silibinina ( $43.0 \pm 4.0$  UI AST).

En base a los resultados de actividad antioxidante y hepatoprotectora se continuó con el aislamiento biodirigido en los extractos de BuOH y AcOEt. En ambos casos se llevó a cabo una separación mediante cromatografía de columna a baja presión de fase de C18 y se eluyó con soluciones acuosas de metanol (40% al 100%). El rastreo de los compuestos activos hizo por cromatografía de capa fina reveladas con solución de DPPH. Sucesivas columnas dieron como resultado la obtención de dos compuestos provenientes del extracto de BuOH y dos compuestos del extracto de AcOEt.

Mediante análisis de <sup>1</sup>HRMN, <sup>13</sup>CRMN, COSY, HMBC, HMQC y NOE se determinaron dos flavonoides glicosilados y sus respectivas agliconas: miricetrina, quercitrina, miricetina y quercetina. Los compuestos presentaron una actividad antioxidante frente al DPPH de  $26.33 \pm 3.05$  ug/mL,  $7.77 \pm 1.00$  ug/mL y  $31.0 \pm 1.73$  ug/mL y  $10.66 \pm 4.16$  ug/mL respectivamente.

En cuanto la actividad hepatoprotectora en las células HepG2, miricetrina, querecrina, miricetina y quercetina presentaron una actividad de  $36.5 \pm 4.11$ ,  $25.5 \pm 0.70$ ,  $28.5 \pm 2.12$  y  $28.5 \pm 0.7$  UI AST respectivamente, la cual resulta ser mayor en todos los casos, en comparación con el estándar de silibinina.

## CONCLUSIONES

Se aislaron cuatro flavonoides de *J. mollis*. Se observó una relación entre la actividad antioxidante y la hepatoprotectora, y a su vez una mayor actividad de hepatoprotección en los flavonoides glucosilados respecto a sus agliconas.

## FINANCIAMIENTO

CONACYT Proyecto Investigación Ciencias Básicas No.180997.

SEP-PROMEP Proyecto UANL-PTC-614.

Programa PAICYT, UANL, CN649-11.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pietta, PG. Flavonoids as antioxidants. J. Nat. Prod. 63(2000) 1035-1042.
2. Salazar Ricardo, Pozos Ma. Esthela, Cordero Paula, Pérez-Meseguer Jonathan, Salinas Mario Cesar, Waksman Noemí. Determination of the antioxidant activity of Plants from northeast Mexico. Pharmaceutical Biology, (2008). 46(3). 166-170.
3. Bustíos C et al. Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es-Salud. Rev Gastroenterol Perú, 2007. Vol.27: 238-245
4. Hart CL et al. Obesity, overweight and liver disease in the Midspan prospective cohort studies. International Journal of Obesity, 2010 (34): 1051-1059
5. Torres-González Liliana et al. Protective effect of four Mexican plants against CCl<sub>4</sub>-induced damage on the Huh7 human hepatoma cell line, 2011, Vol 10 No.1: 73-79



## ANTIOXIDANT POTENTIAL OF *Vernonia polyanthes* LESS. (ASTERACEAE) USING DPPH, FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER AND B-CAROTENE BLEACHING ASSAYS

**Rodrigues, K. C. M.**, Chibli, L. A., Temponi, V. S., Da Silva, J. B., Gasparetto, C. M., Fabri, R. L., Scio, E., Mendonça, L. M., Alves, M. S., Sousa, O. V.

1. Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, Brazil
2. Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil
3. Department of Biochemistry, Institute of Biological Sciences, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil  
orlando.sousa@ufff.edu.br

### INTRODUCTION

*Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae), popularly known as "assa-peixe" in Brazil, presents pharmacological properties as anti-hypertensive, diuretic, antinociceptive and anti-inflammatory<sup>1,2</sup>. The aim of this study was to investigate the antioxidant properties of *V. polyanthes* leaves extracts.

### METHODOLOGY

Dried and powdered leaves were extracted by static maceration with solvents of increasing polarity, until reaching the exhaustion of the drug, yielding hexane extract (HE), ethyl acetate extract (EAE) and ethanol extract (EE). The antioxidant assays used were the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP) and  $\beta$ -carotene bleaching. Rutin was used as control for the three methods, while Quercetin and BHT were also used in  $\beta$ -carotene bleaching method. Bioautography in TLC using DPPH,  $\text{FeCl}_3$  and NP/PEG as reagents was also performed. The data were expressed as mean  $\pm$  S.E.M ( $p < 0.05$ ).

### RESULTS AND DISCUSSION

The  $\text{EC}_{50}$  values ( $\mu\text{g/mL}$ ) for DPPH and FRAP assays were HE ( $>1000/499.96 \pm 1.15$ ), EAE ( $3.12 \pm 0.06/45.39 \pm 0.01$ ) and EE ( $2.29 \pm 0.07/31.20 \pm 0.01$ ), respectively. The EE showed an antioxidant capability even better than Rutin ( $9.15 \pm 0.01/44.38 \pm 0.02$ ). In  $\beta$ -carotene bleaching assay the lipid peroxidation inhibition percentage (%) were HE ( $19.7 \pm 2.25$ ), EAE ( $20.5 \pm 0.34$ ) and EE ( $22.7 \pm 4.01$ ), respectively. All extracts showed higher % than Rutin ( $17.0 \pm 0.53$ ) and lower than both Quercetin ( $24.4 \pm 2.27$ ) and BHT ( $61.3 \pm 0.99$ ). The results were statistically significant by the three evaluated methods. The antioxidant potential was present in all extracts, with lower intensity in the HE. The results of bioautography suggested that *V. polyanthes* possesses antioxidant potential, mainly due to the presence of phenolic compounds, particularly flavonoids.

### CONCLUSION

*V. polyanthes* contains phytochemical constituents that are capable of donating hydrogen, electrons and protons to free radicals<sup>3,4</sup> and presents the ability to reduce oxidative intermediates of lipid peroxidation processes<sup>5</sup>. In this sense, *V. polyanthes* appears as a potential source for the discovery of new molecules with antioxidant capability for several applications, including in the treatment of diseases.

## SPONSORS

UFJF, FAPEMIG, CAPES and CNPq.

## BIBLIOGRAPHY

1. R.R. Silveira, M.A. Foglio, J.A. Gontijo. Effect of the crude extract of *Vernonia polyanthes* Less. on blood pressure and renal sodium excretion in unanesthetized rats. *Phytomedicine*, v.10, n.2-3, pp.127–131, 2003.
2. V.S. Temponi, J.B. Silva, M.S. Alves, A. Ribeiro, J.J.R.G. Pinho, C. Hitomi, M.A. Pinto, G. Del-Vechio-Vieira, O.V. Sousa. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of ethanol extract from *Vernonia polyanthes* leaves in rodents. *International Journal of Molecular Sciences*, v.13, n.3, p.3887–3899, 2012.
3. S. Sen, R. Chakraborty, C. Sridhar, Y. S. R. Reddy, B. De, "Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect," *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, vol. 3, no. 1, pp. 91-100, 2010
4. L. A. Pham-Huy, H. He, C. Pham-Huy, "Free radicals, antioxidants in disease and health," *International Journal of Biomedical Science*, vol. 4, no. 2, pp. 89-96, 2008.
5. O. Blokhina, E. Virolainen, K. V. Fagerstedt, "Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review," *Annals of Botany*, vol. 91, no. 2, pp. 179-194, 2003.



## ANÁLISE POR ESI-MS DE EXTRATOS DE *Machaerium*

Luciana Sayuri Tahira (IC)<sup>1</sup>, Marcelo M.P. Tangerina (PG)<sup>2</sup>, Ângela Lúcia B. Sartori (PQ)<sup>3</sup>, Clélia A. Hiruma-Lima (PQ)<sup>4</sup>, Wagner Vilegas (PQ)<sup>2</sup>, Miriam Sannomiya (PQ)<sup>1</sup>

1. Universidade de São Paulo, Escola de Artes, Ciências e Humanidades, São Paulo
2. Universidade Estadual Paulista - CLP - Campus Experimental do Litoral Paulista, São Vicente
3. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande
4. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu

### INTRODUÇÃO

*Machaerium eriocarpum* Benth. e *M. hirtum* são plantas medicinais brasileiras, cujas entrecasas são utilizadas popularmente no tratamento de inflamações e anti-úlceras, respectivamente. Espécies pertencentes a este gênero fornecem principalmente flavonóides. Apesar do uso popular destas plantas, é incipiente estudos do ponto de vista químico e/ou farmacológico a respeito das mesmas. Assim, neste trabalho foram realizados estudos dos extratos hidroetanólicos destas duas espécies por ESI-MS<sup>n</sup>.

### METODOLOGIA

O material vegetal de *M. eriocarpum* (Vell.) Stellfeld foi coletado em Porto Murinho-MS, enquanto *M. hirtum* em Botucatu-SP. Após secagem e moagem, os galhos foram percolados em etanol 70%.

Os extratos foram diluídos em MeOH. Uma alíquota de cada solução foi filtrada em membrana de PTFE (0,5 mm) e a solução introduzida diretamente na fonte de ESI em fluxo de 5 mL min<sup>-1</sup> (modo negativo).

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

As análises do espectro de massas em *full-scan* em mesmas condições experimentais dos extratos de *Machaerium* apresentaram íons precursores de moléculas desprotonadas [M-H]<sup>-</sup> similares. A fragmentação de segunda-ordem (MS/MS) para cada um dos íons levou à identificação de alguns metabólitos através da comparação com padrões.

O íon precursor de *m/z* 563, quando fragmentado, produz o íon produto de *m/z* 545 Da [M-18-H]<sup>-</sup>, referente à perda de uma molécula de água. Os íons produtos de *m/z* 443 Da [M-120-H]<sup>-</sup>, 473 Da [M-90-H]<sup>-</sup> e 353 Da [M-120-90-H]<sup>-</sup> caracterizam a perda de uma hexose em ligação C-glicosídica. Os íons produtos de *m/z* 503 Da [M-60-H]<sup>-</sup> e 413 Da [M-90-60-H]<sup>-</sup> indicam a perda de uma pentose em ligação C-glicosídica. Estes dados comparados com a fragmentação do padrão anteriormente isolado de *M. hirtum*, indicam que esta se trata da apigenina-6-C-β-D-glucopiranosil-8-C-β-D-xilopiranosídeo (3).

O experimento de MS/MS do íon precursor de *m/z* 445 levou ao íon produto de *m/z* 325 [M-120-H]<sup>-</sup>, indicando uma perda de C-hexose, sugerindo a presença de um derivado da apigenina, anteriormente isolado de *M. hirtum*, apigenina-7-metoxi-6-C-β-D-glucopiranosídeo (4).

A fragmentação do íon precursor de *m/z* 341 levou formação dos íons produtos de *m/z* 281, 179 e 161, os quais são característicos com a sacarose (2). A possível presença de ácido quínico (1) no extrato pode ser evidenciada pela fragmentação de segunda ordem do íon precursor de *m/z* 191. Fragmentação MS<sup>2</sup> forneceu os íons produtos de *m/z* 85, 93, 111, 127, 173.

Tabela 1: Substâncias propostas através da análise do espectro de massas em full-scan de extratos de *M. eriocarpum* e *M. hirtum*.

Substância	m/z [M-H]-	MSn
1	191	85, 93, 111, 127, 173
2	341	281, 179, 161
3	563	545, 503, 473, 443, 413, 353
4	445	325

### CONCLUSÕES

A análise por ESI-MS-MS dos extratos hidroetanólicos dos galhos de *M. eriocarpum* e *M. hirtum* permite detectar de modo rápido a presença de dois derivados de apigenina C-glicosilados, ácido gálico e sacarose em ambos os extratos.

### AGRADECIMENTOS

FAPESP

### BIBLIOGRAFIA

Souza-Maria NCV, Tangerina MMP, Almeida LFR, Hiruma-Lima CA; Vilegas V, Sannomiya M. Compounds in the Twigs of *Machaerium hirtum* (Vell.) Steffeld. Natural Products Research. Submetido (2013).



## COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN DAMIANA (*Turnera diffusa* WILLD.) *in vitro* IRRADIADA CON UV-B

Alcaraz-Meléndez Lilia<sup>1</sup>, Soriano-Melgar Lluvia de Abril Alexandra<sup>2</sup>, Méndez-Rodríguez Lía C.<sup>2</sup>,  
Puente María Esther<sup>2</sup>, Zenteno-Savín Tania<sup>2</sup>

1. Agricultura en Zonas Áridas, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. CIBNOR. Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur; La Paz, B.C.S. México; C.P. 23096; lalcaraz04@cibnor.mx.
2. Planeación Ambiental y Conservación. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. CIBNOR. Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur; La Paz, B.C.S. México; C.P. 23096

### INTRODUCCIÓN

La composición química y nutracéutica de frutas, hortalizas y plantas medicinales está influenciada por condiciones climáticas (temperatura, humedad, radiación UV)<sup>1</sup>. En casos extremos, éstos factores pueden generar un incremento en las especies reactivas de oxígeno (ERO) y el estrés oxidativo en las plantas, lo que genera modificaciones metabólicas para adaptarse a las nuevas condiciones. Altas temperaturas y niveles de radiación solar favorecen la síntesis de compuestos antioxidantes por parte de las plantas, como un mecanismo de defensa<sup>2</sup>. El objetivo fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en damiana (*T. diffusa*) cultivada *in vitro* y su modificación por efecto de la radiación UV-B.

### METODOLOGÍA

Plantas de damiana (n=5 por triplicado) se desarrollaron en medio MS durante 4 semanas y se irradiaron (F875 UV-B Lamp, 315 nm, BioRad, Hercules, CA, EUA). Los tratamientos fueron: 1) UV-B alta ( $0.5 \pm 0.1$  mW/cm<sup>2</sup>) 2 h/día, 2) UV-B severa ( $1 \pm 0.1$  mW/cm<sup>2</sup>) 2 h/día y 3) UV-B severa ( $1 \pm 0.1$  mW/cm<sup>2</sup>) 4 h/día. Se manejaron plantas control desarrolladas sólo con luz blanca. Se analizaron las muestras al día cero, recién irradiadas y cada semana por 3 semanas. Los niveles de radiación se midieron con un radiómetro (ultraviolet intensity meter, General Tools and Instruments, NY, USA). Se determinó el contenido de compuestos fenólicos<sup>3</sup> y la capacidad antioxidante total<sup>4</sup> en hojas frescas.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante total disminuyó en todos los tratamientos de UV-B en comparación con las plantas control. Hipotéticamente se esperaba que los niveles de compuestos fenólicos incrementaran en respuesta a UV-B, debido a que se conoce que la UV-B incrementa los niveles de compuestos fenólicos, como los flavonoides, ya que son pigmentos que captan ésta radiación<sup>5</sup>. Pese a esto, los compuestos fenólicos en plantas de damiana disminuyeron significativamente por efecto de la UV-B. Esto indica que los niveles de UV-B son demasiado altos o que la damiana es sensible a los cambios de UV-B. La UV-B empleada puede estar incrementando el estrés oxidativo y con ello la pérdida de compuestos fenólicos y antioxidantes.

### CONCLUSIONES

Niveles altos de UV-B generan la pérdida de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en plantas de damiana *in vitro*.



## FINANCIADORES

CIBNOR (BIO1,PC2.0, PC0.10, PC0.5, PC0.9), CONAFOR (PE09.02) y CONACyT (205249).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Jacobo-Velázquez, D.A. y L. Cisneros-Zevallos. 2012. An alternative use of horticultural crops: stressed plants as biofactories of bioactive phenolic compounds. *Agriculture*. 2:259-271.
2. Pandjaitan, N., L.R. Howard, T. Morelock y M.I. Gil. 2005. Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation. *J Agric Food Chem*. 53:8618-8623.
3. Singleton, V.L. y J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolyb-dicphosphotungstic acid reagents. *American J Enol Viticulture*. 16:144-158.
4. Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier y C. Berset. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*. 28:25-30.
5. Rozema J., J. Staiij, L. Björn y D. Nancy. 1999. Depletion of stratospheric ozone and solar UV-B radiation. The Netherlands pp.1-19.



## RUTINA COMO MARCADOR PROMISORIO DE EXTRACTOS DE CÁLCICES DE *Physalis peruviana* CON ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Toro, R.M.,<sup>1,4</sup>, Aragón, D.M.<sup>1,2,4</sup>, Ospina, L.F.<sup>2,4</sup>, Ramos, F.A.<sup>3,5</sup>, Castellanos, L.<sup>3,5</sup>

1. Grupo de Investigación en Tecnología de Productos Naturales-TECPRONA; rmtoroa@unal.edu.co

2. Grupo de Investigación Principios Bioactivos de Plantas Medicinales; dmaragonn@unal.edu.co

3. Grupo de Estudio y Aprovechamiento de Productos Naturales Marinos y Frutas de Colombia

4. Departamento de Farmacia- Universidad Nacional de Colombia

5. Departamento de Química-Universidad Nacional de Colombia

### INTRODUCCIÓN

La uchuva (*Physalis peruviana* L.), es una especie andina ampliamente utilizada en la medicina popular como anticancerígeno, antimicobacterial, antipirético, inmunomoduladora, y para el tratamiento de enfermedades como malaria, asma, hepatitis, dermatitis, y reumatismo<sup>1,2</sup>. Los cálices que encierran los frutos son un material de desecho en las operaciones de poscosecha de la uchuva, por tanto su estudio como materia prima de fitoterapéuticos es de gran pertinencia.

### OBJETIVO

El propósito de este trabajo fue aislar e identificar un compuesto químico, con actividad antiinflamatoria, presente en los cálices de *Physalis peruviana* y proponerlo como posible marcador terapéutico.

### METODOLOGÍA

Los cálices de *Physalis peruviana* secos y molidos fueron extraídos por percolación con etanol (EtOH). El extracto crudo (EC) se fraccionó siguiendo el método modificado de Kupchan. La actividad antiinflamatoria de los extractos y fracciones se evaluó utilizando el modelo de edema auricular inducido por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA). A partir de la fracción con mayor actividad antiinflamatoria se purificó un marcador a través de cromatografía en columna en fase normal y sephadex LH-20, el cual se denominó WB4E. La elucidación de su estructura se realizó por espectrometría de masas, RMN mono y bidimensional.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La partición del extracto de *P. peruviana* permitió obtener 5 fracciones a partir del EC, las cuales fueron evaluadas en el modelo de edema auricular, mostrando actividad significativa las fracciones en diclorometano y butanol. Los porcentajes de inhibición fueron  $44,2 \pm 8,6$  % y  $47,6 \pm 8,9$ %, respectivamente. Se sometió la fracción butanólica a cromatografía en columna, logrando purificar el compuesto WB4E, el cual se identificó como rutina, un compuesto ampliamente reportado con actividad antiinflamatoria<sup>3</sup>, que en nuestro modelo mostró un porcentaje de inhibición de  $50,3 \pm 13,6$  %.

### CONCLUSIONES

A través del estudio se validó el uso de *Physalis peruviana* como antiinflamatorio, y su uso promisorio como fitoterapéutico. Además, se logró purificar e identificar a la rutina como posible marcador de los extractos de cálices *Physalis peruviana*.

## FINANCIACIÓN

El presente estudio fue financiado por la Dirección de Investigación Sede Bogotá (DIB) de la Universidad Nacional de Colombia.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Wu, S.J., et al., *Antioxidant activities of Physalis peruviana*. Biol Pharm Bull, 2005. 28(6): 963-6.
2. Franco, L.A., Matiz, G.E., Calle, J., Pinzon, R., Ospina, L.F., *Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de Physalis peruviana L*. Biomedica, 2007. 27: 110 - 115.
3. Guardia, T., Rotelli, A.E., Juarez, A.O., Pelzer, L.E., *Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat*. Il Farmaco, 2001. 56: 683-687.



## ESTUDO QUÍMICO DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Machaerium eriocarpum* E *M. hirtum*

Charlyana Carvalho Bento (IC)<sup>1</sup>, Marcelo M.P. Tangerina (PG)<sup>2</sup>, Ângela Lúcia B. Sartori (PQ)<sup>3</sup>, Clélia A. Hiruma-Lima (PQ)<sup>4</sup>, Wagner Vilegas (PQ)<sup>2</sup>, Miriam Sannomiya (PQ)<sup>1</sup>

1. Universidade de São Paulo, Escola de Artes, Ciências e Humanidades, São Paulo

2. Universidade Estadual Paulista - CLP - Campus Experimental do Litoral Paulista, São Vicente

3. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande

4. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu

### INTRODUÇÃO

A família Fabaceae possui 482 gêneros e 12000 espécies de ampla distribuição nas regiões temperadas e tropicais. Espécies dessa família são ricas em flavonóides, alcalóides, terpenos e saponinas, com interessantes atividades farmacológica e terapêutica. *Machaerium* possui aproximadamente 130 táxons, das quais já foram isolados isoflavonas, pterocarpanos, neo-flavonóides, flavanonas, isoflavanas, chalconas e ainda, benzoquinonas, arilcoumarinas e cinamifenóis. *Machaerium eriocarpum* é popularmente conhecida como "Angiquinho" e "Espinheira-Santa", enquanto *M. hirtum* é "bico-de-andorinha" e "jacarandá-de-espinho". São plantas medicinais utilizadas popularmente no Brasil no tratamento de inflamações e úlceras. De acordo com um criterioso levantamento bibliográfico, poucos relatos são encontrados a respeito destas duas espécies com relação à constituição química ou à farmacologia. Deste modo, o estudo químicos destas espécies permitirão um melhor conhecimento a respeito do gênero e bem como uma possível associação de seus efeitos farmacológicos.

### METODOLOGIA

O material vegetal de *M. eriocarpum* (Benth.) foi coletado em Porto Murtinho-MS, enquanto *M. hirtum* em Botucatu-SP. Após secagem e moagem, as folhas e os galhos foram percolados em etanol 70%.

Para as separações cromatográficas foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (semipreparativo) com bomba de fluxo máximo 10 mL/min acoplada a detector por Índice de Refração Differential Refractometer, modelo Waters R401, da Millipore e registrador modelo L250E (Knauer). As condições cromatográficas para as separações foram adquiridas em coluna de fase reversa RP18, modelo Luna 2 (Phenomenex<sup>®</sup>) de 250 x 10 mm i.d.; 10 µm; Synergi Hydro (Phenomenex<sup>®</sup>) de 250 x 10 mm i.d.; 4 µm.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

O pó das folhas (500 g) de *M. eriocarpum* e dos galhos de *M. hirtum* foram submetidos à percolação pelo método de extração exaustivo com etanol 70%, apresentando um rendimento de 11,2% e 17% de rendimento, respectivamente.

Uma parte de cada extrato EtOH 70% (2,0 g) foi fracionada em coluna de Sephadex LH-20 (57 cm x 3,0 cm d.i), eluída com metanol. O fracionamento das frações oriundas de cada uma das colunas permitiram o isolamento de alguns compostos. Após análises dos espectros de RMN <sup>1</sup>H (experimentos mono e bidimensionais) juntamente com dados de espectrometria de massas permitiram atribuir os constituintes como sendo a apigenina-6-C-β-D-glucopiranosídeo, apigenina-4'-metoxi-8-C-β-D-glucopiranosídeo e um derivado C-glicosilado da tricina nas folhas de *M. eriocarpum*. Enquanto a apigenina-6-C-β-D-glucopiranosídeo, apigenina-6-C-β-D-glucopiranosil-7-O-β-D-glucopiranosídeo, apigenina-6-C-β-D-glucopiranosil-8-C-β-D-xilopiranosídeo, apigenina-7-metoxi-6-C-β-D-glucopiranosídeo e luteolina-6-C-β-D-glucopiranosil-7-O-β-D-glucopiranosídeo foram isolados e identificados no extrato de *M. hirtum*.

## CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico dos extratos hidroalcoólicos de *M. eriocarpum* e *hirtum* indicam a predominância da ocorrência de flavonas C-glicosiladas, sendo a presença de apigenina-6-C-β-D-glucopiranosídeo em ambos os extratos.

## FINANCIAMENTO

FAPESP pelos auxílios financeiros e pela bolsa concedida.

## BIBLIOGRAFIA

- TANGERINA, M. M. P. Fitoterápicos Padronizados Para o Tratamento de Doenças Crônicas: *Machaerium hirtum*. 2012. 77 p. Dissertação (mestrado em química) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2. ed. São Paulo: Unesp, 2002. 604 p.



## ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS DE *Lepechinia bullata* (EPLING) Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

**Pérez-Colmenares Alida**<sup>1</sup>, Vivas Guerrero Karla<sup>2</sup>, Hernandez Johanna<sup>1</sup>, Bracho Ismer<sup>1</sup>, Rojas Luis B.<sup>1</sup>, Chataing Bernardo<sup>2</sup>, Usubillaga Alfredo<sup>1</sup>

1. Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela; alidaperez@ula.ve
2. Laboratorio de Análisis Biológico de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela

### INTRODUCCIÓN

El género *Lepechinia* (Lamiaceae) se encuentra distribuido desde el suroeste de Estados Unidos hasta Argentina<sup>1</sup>, en Sudamérica se han reportado alrededor de 40 especies<sup>2</sup> de las cuales solo 4 se encuentran en Venezuela: *L. bullata*, *L. salviaefolia*, *L. conferta* y *L. schiedeana*<sup>3</sup>. Investigaciones realizadas sobre las partes aéreas de esta planta reportan la presencia de quinonas diterpénicas<sup>4</sup> y sesquiterpenos<sup>5</sup>. A continuación se describe el aislamiento, identificación y evaluación de la actividad antibacteriana de los compuestos obtenidos de las hojas de *L. bullata*.

### METODOLOGÍA

Las hojas de la planta se recolectaron en el Páramo de la Culata (Mérida-Venezuela). El material vegetal seco y molido (1700,0 g) fue extraído en columna abierta con hexano y acetona a temperatura ambiente. Ambos extractos fueron purificados mediante diferentes técnicas cromatográficas hasta la obtención de los compuestos I y II. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en agar con discos<sup>6</sup> contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

### RESULTADOS

Se determinó que el compuesto I (225,0 mg) era el carnosol, un diterpeno tipo abietano previamente aislado de otras especies de *Lepechinia*, mientras que el compuesto II (388,0 mg) se estableció como 3-acetil-ursolato de metilo. Ambas sustancias se elucidaron por comparación de los datos espectroscópicos obtenidos de RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, DEPT y MS con los publicados en la literatura<sup>7</sup>. Posteriormente, se obtuvo el derivado Ia al tratar el compuesto I con piridina y anhídrido acético (acetilación) y el derivado IIa por hidrólisis básica de II. La evaluación de la actividad antibacteriana muestra que I y II inhiben el crecimiento de *Staphylococcus aureus* a una CIM de 10 µg/mL, mientras que el 11,12-diacetil-carnosol (Ia) no fue activo contra ninguna de las cepas evaluadas y el ursolato de metilo (IIa) mostró actividad contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* con una CIM de 10 µg/mL, 10 µg/mL y 100 µg/mL respectivamente.

### CONCLUSIONES

El extracto de hexano de las hojas de *L. bullata* presenta como compuesto mayoritario el carnosol (I), mientras que el extracto de acetona contiene el ácido ursólico (obtenido bajo la forma de 3-acetil-ursolato de metilo). Ambos compuestos se reportan por primera vez en *L. bullata*. Los compuestos I y II presentaron actividad contra *Staphylococcus aureus*, mientras que el derivado IIa fue activo contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* y el derivado Ia no fue activo contra ninguna de las cepas evaluadas.

### REFERENCIAS

1. Epling, C. Brittonia 1948; 6 (3): 352-362.
2. Hart, J. Syst Bot, 1985; 10 (2): 134-146.
3. Cegarra, J., Soriano, P., Costa, M., Lluch, A., Martínez, I. Revista de Fitoterapia, 2006; 6 (2): 155-159.
4. Jonathan, L., Pezzuto, J., Fong, H., Farnsworth, N. J Nat Prod, 1989; 52 (3): 57-575.
5. Eggers, M., Sinnwell, V., Stahl-Biskup, E. Phytochemistry, 1999; 51 (8): 987-990.
6. Salazar E., B. Nieves, M. Ruiz, M. Araque, E. Velazco, J. Vila. Med Sci Monit, 2007; 13 (4): 89-94.
7. Ciangherotti, C., Buitrago D, Morales A. Rev Fac Farm, (2004); 46 (1): 31-34.



## ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA RESINA DEL *Protium* sp. (BURSERACEAE) Y LOS DERIVADOS SEMISINTÉTICOS DE LOS TRITERPENOS $\alpha$ Y $\beta$ AMIRINA

Bracho Ismer<sup>1</sup>, Hernández Johanna<sup>1</sup>, Pérez Alida<sup>1</sup>, Rojas Luis<sup>1</sup>, Usubillaga Alfredo<sup>1</sup>, Carmona Juan<sup>2</sup>, Carrero José<sup>3</sup>

1. Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela; ismer@ula.ve, lrojas@ula.ve

2. Herbario de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida

3. Departamento de epidemiología del Hospital Universitario de los Andes

### INTRODUCCIÓN

La familia Burseraceae se compone de 25 géneros y 700 especies caracterizadas presentar resina. Varias especies han sido usadas en la medicina tradicional<sup>1,2,3</sup>. De esta familia se han aislado diversos tipos de metabolitos secundarios, resaltando los triterpenos pentacíclicos<sup>4</sup>. Del género *Protium* sp, se logro obtener una mezcla de  $\alpha$  y  $\beta$  amirina, los cuales son 2 triterpenos pentacíclicos, uno de esqueleto básico tipo ursano ( $\alpha$ -amirina) y el otro de tipo oleano ( $\beta$ -amirina), con diversas actividades biológicas<sup>5</sup>. A partir de la  $\alpha$  y  $\beta$  amirina se obtuvieron 3 derivados semisintéticos, el primero es la mezcla de la amirina acetilada, la segunda es una oxidación de la mezcla y la tercera es una oxidación alílica con el grupo hidroxilo protegido previamente. Las estructuras moleculares fueron confirmados por IR y espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H y RMN <sup>13</sup>C.

### METODOLOGÍA

La recolección de 200g de resina del *Protium* sp se realizó en mayo de 2010, vía Tovar a 12Km de Santa Cruz de Mora, Mérida-Venezuela. La resina fue purificada cromatografía de vacío con hexano, acetato de etilo y metanol. La fracción de hexano fue purificada en cromatografía flash obteniéndose la mezcla de  $\alpha, \beta$ -amirina caracterizada mediante IR, RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, CG-EM. Se empleó la semisíntesis obteniéndose 3 derivados:  $\alpha, \beta$ -amirina acetiladas con anhídrido acético y piridina, una oxidación en presencia de clorocromato de piridinio (PCC) y por último una oxidación alílica con clorocromato de piridinio (PCC) pero con el grupo hidroxilo protegido. Las estructuras moleculares de los compuesto fueron confirmados por IR y RMN <sup>1</sup>H <sup>13</sup>C, CG-EM.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la fracción de hexano de la resina del *Protium* sp se aisló e identifico la  $\alpha$  y  $\beta$  amirina como compuesto mayoritario (5,75%) que sirve como compuesto de partida para hacer reacciones de semisíntesis, por su actividad biológica y rendimiento.

### CONCLUSIÓN

De la resina del *Protium* sp, (Burseraceae) se obtiene en un buen rendimiento de la mezcla de  $\alpha$  y  $\beta$  amirina, el cual tienen potente actividad biológica, estas dos características justifican las modificaciones químicas, con lo cual presumirse mejorar las actividades biológicas.

## FINANCIAMIENTO

Este trabajo se ha realizado gracias a el FONACIT y CDCHT-ULA, Venezuela.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Heywood, V. H., 1993. Plantas florecientes del mundo. Prensa de la Universidad de Oxford.
2. Mabberley, D. J., 1997. El libro de la planta: Un diccionario portable de las plantas vasculares. Prensa de la universidad de Cambridge.
3. Weeks, Andrea., Daly, Douglas C., Simpson, Beryl B., 2005, The phylogenetic history and biogeography of the frankincense and myrrh family (Burseraceae) based on nuclear and chloroplast sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution.*, 35 (1), Pág. 85–101.
4. Cruz-Cañizares, J.; Domenech, M. T.; Gimeno, J. V.; Mateo, R.; Bosh, F., 2005. Study of Burseraceae resins used in binding media and varnishes from artworks by gas chromatography-mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1093(1-2), pág. 177-194.
5. Dzubak, P.; Hajduch, M., (2006) Pharmacological activities of natural Triterpenoids and their therapeutic implications. *Natural Product Reports*. 23(3), Pág. 394-411.





## ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL AND EXTRACTS OF FOUR COLLECTIONS OF *Verbena litoralis* KUNTH

Rachel de Lima<sup>1</sup>, Luisa Mullazani Machado<sup>1</sup>, Rosiana Bertê<sup>2</sup>, Luana Rossato<sup>1</sup>, Sydney H. Alves<sup>1</sup>, Marcelo Pedroso<sup>3</sup>, Ademir Morel<sup>3</sup>, **Melânia Palermo Manfron<sup>1</sup>**

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFSM

2. Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia da UFSM

3. Programa de Pós-Graduação em Química da UFSM

### INTRODUCTION

*Verbena litoralis* Kuntz is a species belonging to the family Verbenaceae, native to South America, used as medicine in diarrhea, malaria, in inflammatory processes, such as antispasmodic, healing and antioxidant. This paper reports the chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil and hydro-ethanolic extract of four collections of *V. litoralis*.

### METHODOLOGY

The chemical composition of the oil was determined by GC / MS. Through the minimal inhibitory concentration (MIC) was observed that the extract in different trials showed better antimicrobial activity than the essential oil. The MIC was determined across the different micro-organisms such as *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia rettgeri*, *Streptococcus agalactiae*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella pullorum*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus intermedius*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*.

### RESULTS

*A. fumigatus* was very weak sensitivity so as to extract the essential oil. The micro-organisms were weakly sensitive to essential oils, with the exception of *P. rettgeri* and *S. intermedius*. *V. litoralis* showed 0.7317% volatile oil consisting of cis-chrysanthenol, neo-verbanol, Isobornyl propanate, myrac aldehyde, ternine, isophyllocladene and phenyl ethyl anthranilate.



## INFLUENCE OF EXTRACTION SOLVENTS ON THE TOTAL FLAVONOIDS CONTENTS OF *Strychnos pseudoquina* LEAF EXTRACT

Letícia Monteiro Farias<sup>1</sup>, Douglas Costa Gontijo<sup>1</sup>, Fabiano Guimarães Silva<sup>2</sup>, **João Paulo Viana Leite<sup>1</sup>**

1. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Biológicas e da saúde, Viçosa, MG, Brasil; jpleite@ufv.br

2. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano/Campus Rio Verde, Rio Verde, GO, Brasil

### INTRODUCTION

The *Strychnos* genus includes approximately 200 plant species, many of which are known for their potential medicinal secondary metabolites. *Strychnos pseudoquina* St. Hil. is a native cinchona-like tree of the Brazilian savanna that is popularly used to treat hepatic and stomach diseases and malaria (Correa, 1952). A fractionation of *S. pseudoquina* stem bark extract conducted by our research group led to the isolation of two majority flavonoids, quercetin 3-O-methyl ether and strychnobiflavone showing biological activity. This fact led to performing research with leaves of *S. pseudoquina*. In order to obtain the maximum yields of flavonoids in *S. pseudoquina* leaves extract, which in turn is related to biological activity, phytochemical prospection, influence of extraction solvent were examined and methodology for quantifying total flavonoids in *S. pseudoquina* was developed.

### METHODOLOGY

The leaves of *S. pseudoquina* were collected in a Brazilian savanna region. A voucher specimen was deposited in the herbarium. The vegetable material was selected and air-dried at room temperature. Phytochemical screening for the presence of secondary metabolites was performed using TLC analyses, where a silica gel GF254 (Merck) was run using different eluting systems. The fingerprint chemical profile of the extract was recorded by RP-HPLC coupled with photodiode array detector, performed on a LC-18 column. To evaluate the influence of the extraction solvent, the dried samples were extracted by ultrasound-assisted, for 30 min., varying different solvents (ethyl acetate, ethanol, methanol, 70% ethanol). The extracts were filtered and the total flavonoids contents were determined by aluminium chloride spectrophotometric method. The total flavonoid content was expressed as mg of rutin equivalents (RE)/g dried sample.

### RESULTS AND DISCUSSION

The ethanolic extract of *S. pseudoquina* leaves presented positive reactions for flavonoids, tannins, triterpene and steroid. On preliminary RP-HPLC examination of the ethanolic 70% extract showed some majority peaks which when analyzed by the DAD detector appeared to refer to flavonoids, but with retention times different from those flavonoids isolated from the bark of *S. pseudoquina*, quercetin 3-O-methyl ether and strychnobiflavone. The contents of total flavonoids of crude extracts obtained for different extraction solvents are shown in Table 1. Extraction of dried leaves with 70% ethanol promoted the crude extract with higher total flavonoid content.

Table 1. Total flavonoid contents of different extracts from *Strychnos pseudoquina* leaves.

Extract	Ethyl acetate	Ethanol	Methanol	70% Ethanol
Total flavonoids (mg rutin equivalents/g dried sample)	-	2.79	4.15	9.31

Note. - : There was no detection of flavonoid

The flavonoid content data also indicated that the increased flavonoid extraction followed the increasing polarity of the solvents tested, indicating that these compounds probably are present in the *S. pseudoquina* leaves in the glycosides form.

## CONCLUSIONS

It is known that the extraction of plant materials depends on various factors such as methods, solvents, and extraction time to separate different quality and quantity of bioactive components in the extracts. The extraction solvent 70% ethanol was the most suitable to obtain crude extract from *S. pseudoquina* leaves with higher content of total flavonoid, that is probably the major bioactive secondary metabolites class of this species.

## SPONSOR

Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

## REFERENCES

P. Corrêa, Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Cultivadas Exóticas, 1952.



## TRITERPENOS DE *Ibervillea Sonorae* CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA

Torres Moreno, H.<sup>1</sup>, Garibay Escobar, A.<sup>1</sup>, Velázquez Contreras, C.<sup>1</sup>, Marcotullio, M.C.<sup>2</sup>, Curini, M.<sup>2</sup>, **Robles Zepeda, R.E.**<sup>1</sup>

1. Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales S/N, Col. Centro, Hermosillo, Sonora, México; rrobles@guayacan.uson.mx

2. Università degli Studi di Perugia, Piazza Università 1,06123 Perugia, Italia

### INTRODUCCIÓN

En el panorama mundial el cáncer figura como una de las enfermedades con mayor índice de mortalidad, según las cifras reportadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2013). La cirugía, radioterapia y quimioterapia se reconocen universalmente como las terapias más eficaces contra el cáncer, (Jiang et al., 2012), aun que gradualmente están siendo reemplazadas por nuevas drogas anti-tumor específicas (Tsuruo et al., 2002). A pesar de los avances en el tratamiento, el fenómeno de multirresistencia a los fármacos (Milane et al, 2011), la inadaptabilidad inerte de las células malignas que se traduce a enfermedades recurrentes y metástasis, siguen siendo causa importante de morbilidad y mortalidad (Pannuti et al., 2010). Es por ello que el cáncer representa un desafío en todo el mundo para el desarrollo de nuevas terapias (Curtin et al., 2008). *Ibervillea sonorae* es una planta nativa del estado de Sonora que pertenece a la familia de las Cucurbitáceas (Watson et al., 2008; Hernández-Galicia et al., 2007). Por lo antes expuesto, el grupo de trabajo se propuso como objetivo aislar y caracterizar los compuestos con actividad antiproliferativa de *Ibervillea sonorae*.

### METODOLOGÍA

Mediante MTT se evaluó la actividad antiproliferativa de las fracciones de hexano, acetato de etilo, etanol y residual obtenidas del extracto metanólico crudo sobre las líneas celulares HeLa, A549, RAW 264.7, M12. A<sup>+</sup>C3F6 y L-929. Para el aislamiento biodirigido, se utilizaron técnicas de cromatografía en columna y HPLC. La caracterización química se realizó mediante (<sup>1</sup>H RMN y <sup>13</sup>C-RMN, GC-HRMS y HPLC-MS.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayor actividad antiproliferativa se observó en la fracción de acetato de etilo con una IC50 de 22.8 µg/mL. Posteriormente la fracción de acetato de etilo fue separada por cromatografía en columna de sílica gel, las subfracciones cromatográficas fueron agrupadas en siete subfracciones (A-G). Las fracciones menos polares (A y B) mostraron la mayor actividad antiproliferativa en la línea celular A549 con una de IC50 4.1 y 4.5 µg/mL, respectivamente. En el proceso de aislamiento y caracterización química se exploraron la subfracción cromatográfica A y el extracto de acetato de etilo, para lo cual se utilizaron las técnicas de cromatografía en columna, Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y espectros de acoplamiento en J (Jmod), así mismo se implementó la Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas de Alta Resolución (GC-HRMS) y Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría de Masas para la identificación de biomoléculas (GC-MS). De la fracción cromatográfica A, se logró aislar y caracterizar el triterpeno kinoína A. Mientras que en el extracto de acetato de etilo se aisló y caracterizó kinoína A y su glucósido, así como el diglucósido de kinoína B. La evaluación de la actividad biológica de estos triterpenos mostró que solo kinoína A posee actividad antiproliferativa frente a las líneas celulares A549, M12AK.C3F6, HeLa y RAW 264.7, con una IC50 de 39.6, 31.48, 24.7-12.37 y 61.58 µM, respectivamente.

### CONCLUSIONES

Kinoína A es una molécula presente en *Ibervillea sonorae* que posee efecto antiproliferativo, se describió por primera ocasión la actividad antiproliferativa de este compuesto.



## CHEMICAL COMPOSITION AND FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF *Achillea ligustica* ALL. WILD GROWING IN LIPARI (AEOLIAN ISLANDS, SICILY)

Ben Jemia M.<sup>1</sup>, Rouis Z.<sup>2</sup>, Maggio A.<sup>3</sup>, Venditti A.<sup>4</sup>, **Bruno M.**<sup>3</sup>, Felice Senatore F.<sup>5</sup>

1. Laboratoire des Plantes Extremophiles - Biotechnologic Center Borj-Cedria Technopark, B.P. 901, 2050 Hammam-Lif, Tunisie; meriem\_cbbc@yahoo.fr
2. Laboratoire des Maladies Transmissibles et Substances Biologiquement Actives LR99ES27, Faculté de Pharmacie, Avenue Avicenne, 5000, Monastir, Tunisie
3. Department STEBICEF, University of Palermo, Viale delle Scienze, Parco d'Orleans II - 90128 Palermo, Italy; maurizio.bruno@unipa.it
4. Department di Chemistry, University of Roma "La Sapienza", P.le Aldo Moro, 5 - 00185 Roma, Italy
5. Department of Pharmacy, University of Naples "Federico II", Via D. Montesano, 49 - 80131 Naples, Italy

### INTRODUCTION

The genus *Achillea* L. (Asteraceae) comprises about 100 species of herbaceous, perennial plants which are mainly distributed in Europe, Northern and Western Asia [1]. Different species of this genus were widely used in traditional medicine. In traditional Persian literature some species of *Achillea*, named Bumadaran in Persian language, are reported to have several properties: restorative, anti-inflammatory, perspiratory, spasmolytic, emmenagogue and diuretic factor. Furthermore, they were applied for treating haemorrhage, rheumatic sore, wounds healing and pneumonia. In the south of Colorado and New Mexico, the species *Achillea millefolium* L. was called Plumajillo and "little feather" on account of form of the leaves. Ancestral Americans and early colonists were using this plant because of its astringent properties as a treatment in wound healing and against bleeding. Species of the genus *Achillea* are of great importance in Anatolia where are used to prepare herbal teas for stomach ache and flatulency. In Chinese medicine, *Achillea* ssp. are regarded for three principal effects: tonic, diaphoretic and anti-hypertensive. In Sicilian folk medicine, the fresh leaves of *A. ligustica* are used as an antimicrobial and haemostatic or, swallowed as pellets, against stomach-ache.

### METHOD

Aerial parts (A1) and flowers (F1) of *A. ligustica* were collected in June 2012 from plants growing at Lami, Lipari (Aeolian Islands, Sicily, Italy). The air-dried samples were ground in a Waring blender and then subjected to hydrodistillation for 3 h using *n*-hexane as solvent, according to the standard procedure previously described [2]. The extracts were dried over anhydrous sodium sulfate and then stored in sealed vials, at -20°C, ready for the GC and GC-MS analyses. The samples yielded 0.083% (A1) and 0.228% (F1) of yellow oils (w/w). Analytical gas chromatography was carried out on a Perkin-Elmer Sigma 115 gas chromatograph fitted with a HP-5 MS capillary column (30 m x 0.25 mm), 0.25 µm film thickness. DPPH ABTS and free radical scavenging activities were carried out according to literature [3,4].

### RESULTS AND DISCUSSION

The chemical composition of the essential oils from aerial parts and flowers of *Achillea ligustica* All., collected in Lipari (Aeolian Islands) was evaluated by GC and GC-MS. (*Z*)-Chrysanthenyl acetate was the most abundant component of both oils (29.6% in A1 and 27.8% in F1) followed by viridiflorol (16.8% in A1 and 21.6% in F1), bornyl acetate (8.7% in A1 and 11.6% in F1) and 1,8-cineole (7.4% in A1 and 9.3% in F1).

## CONCLUSION

A comparison with the composition of the different populations studied so far has been done. Furthermore the free radical scavenging activity of the oil (A1) was determined by DPPH and ABTS methods.

## REFERENCES

1. <http://compositae.landcareresearch.co.nz/>
2. Council of Europe. (2004) *European Pharmacopoeia*, 5th ed.; Council of Europe: Strasbourg Cedex, France, Volume I, pp. 217–218.
3. Hanato T, Kagawa H, Yasuhara X, Okuda T. (1988). *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 36, 1090.
4. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. (1999). *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231.



## COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Erechtites valerianaefolia* (ASTERACEAE), DE MÉRIDA VENEZUELA

Hernández Johanna<sup>1</sup>, Rojas Luis<sup>2</sup>, Usubillaga Alfredo<sup>2</sup>, Carmona Juan<sup>3</sup>

1. Postgrado Interdisciplinario de Química Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela; johannac7@hotmail.com
2. Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela
3. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela
4. Herbario de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

### INTRODUCCIÓN

La familia Asteraceae comprende alrededor de 1.700 géneros y 30.000 especies (Alvarenga et al., 2001) con una distribución cosmopolita. Compuesta de 3 subfamilias y 17 tribus, siendo la Senecioneae la más grande con 150 géneros y 3000 especies. Posee sesquiterpenos de tipo eremofilano y furanoeremofilano, alcaloides pirrolizidínicos, flavonoides y lactonas sesquiterpénicas. Estudios previos reportan la composición química del aceite esencial de *Erechtites hieracifolia* recolectada en Ceara, Brazil, que posee  $\alpha$ -felandreno (41,3%), *p*-cimeno (22,2%), *cis*-ascaridol (10,2%) y *E*-cariofileno (7,4%) (Lemos, et al., 1998). En el presente estudio se analiza la composición química del aceite esencial obtenido a partir de las hojas frescas de la especie *Erechtites valerianaefolia*, de Mérida-Venezuela, siendo el primer reporte sobre la especie.

### METODOLOGÍA

Las hojas frescas del *Erechtites valerianaefolia* fueron recolectadas en el Municipio Libertador (Mérida-Venezuela) a 5Km de la Antena, El Morro, en Abril de 2011. La planta fue identificada en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, con un Voucher depositado bajo el número 919.

El aceite esencial fue obtenido a partir de 1 Kg de las hojas frescas de esta especie mediante hidrodestilación por un periodo de 2 horas usando la trampa de Clevenger. El aceite esencial fue separado, secado con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, guardado en la nevera a 4 °C bajo atmósfera de N<sub>2</sub>.

La muestra fue analizada por CG/EM y los compuestos se identificaron usando la librería Wiley MS (6<sup>th</sup> edición) y por comparación del índice de Kováts (Adams, 1995; Davies, 1990; Sandra P, 1987).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Erechtites valerianaefolia* fue analizado por CG/EM. El rendimiento fue de 0,5 mL (v/w), se identificó el 99,8% de la mezcla. Los compuestos mayoritarios resultaron ser: limoneno (56,7%), mirceno (12,7%), *trans*- $\beta$ -farneseno (10,2%) y el 1-felandreno (8,7%).

### CONCLUSIÓN

El aceite esencial de *E. valerianaefolia*, resultó tener un buen rendimiento (99,8%), siendo el limoneno y mirceno unos de los compuestos mayoritarios, con lo cual se puede presumir buenas actividades biológicas.

## FINANCIADORES

Este trabajo se ha realizado gracias a EL FONACIT y CDCHT, ULA, Venezuela.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Adams, R. (1995). Identification of essential oils components by gas Chromatography/mass spectroscopy. Altured Publishing. Illinois, p 469.
2. Alvarenga, S. et al. (2001). Chemosystematics studies of natural compounds isolated from Asteraceae. Characterization of tribes by principal component analysis. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. 56, 27-37.
3. Davies, N. (1990). Gas Chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silica and carbowax 20 M. Phases. *Journal of Chromatography. A* 503, 1-24. (Davies, 1990).
4. Lemos, T. et al. (1998). Essential oil of *Erechtites hieracifolia*. Journal essential oil research. 10, 217.
5. Lorenzo, D. et al. (2001). Composition of the essential oil of *Erechtites hieracifolia* from Bolivia. Flavour and Fragrance Journal. 16, 353-355.
6. Sandra. P., Bichi, C. (1987). Capillary gas chromatography in essential oil analysis. Husething. Heidelberg.





## LIGNANAS FUROFURÂNICAS DE *Piper lucaeanum* var. *grandifolium*

Ana Clarissa C. Peixoto<sup>1</sup>, Leosvaldo S.M. Vellozo<sup>2</sup>, Elsie F. Guimarães<sup>3</sup>, María Auxiliadora C. Kaplan<sup>1</sup>

1. Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN), Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil
2. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG), Departamento de Bioquímica, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil
3. Instituto de Pesquisa do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

### INTRODUCCIÓN

A família Piperaceae que com frequência compõe a vegetação herbácea, arbustiva ou subarbustiva das florestas tropicais brasileiras contribui muito para a riqueza e a fisionomia peculiar desses ecossistemas<sup>1</sup>. *Piper lucaeanum* var. *grandifolium*, pertencente a essa família, nunca foi estudada do ponto de vista químico, e é encontrada com frequência nas regiões sul e sudeste do Brasil<sup>2</sup>. A família Piperaceae é caracterizada pelo grande número de metabólitos especiais incluindo lignóides, os quais mostram possuir variadas atividades biológicas<sup>3</sup>, como antiviral, antioxidante, antitumoral, antifúngica, leishmanicida e antireumática<sup>4</sup>.

A Mata Atlântica destaca-se pela grande diversidade vegetal, pelo elevado índice de endemismo de suas plantas e pelo seu acervo metabólico, fatores esses que impõem o seu estudo, principalmente considerando o alto desmatamento no País<sup>5</sup>.

### METODOLOGIA

A espécie *Piper lucaeanum* var. *grandifolium* foi coletada no município de Viçosa, MG, Brasil. Do extrato hexânico de folhas, obtido a partir do processo de maceração estática, foram isoladas duas lignanas furofurânicas, através de metodologia cromatográfica clássica e cujas estruturas foram determinadas a partir de análises espectroscópicas e espectrométricas.

Avaliação dos dados espectrais permitiu sugerir que as substâncias isoladas tratam-se das lignanas furofurânicas: a epifargenina e a eudesmina.

### RESULTADOS

Essas substâncias apresentaram o padrão de fragmentação esperado para o espectro de massas incluindo os íons moleculares  $m/z$  370 e  $m/z$  386, relativos à epifargenina e à eudesmina, respectivamente. No espectro de RMN <sup>1</sup>H observam-se os sinais indicativos das estruturas químicas das referidas lignanas: um multipletto atribuído aos átomos de hidrogênio aromáticos, um simpleto e um duplodupletto relativos aos átomos de hidrogênios metilênicos e os simpletos dos grupos metoxila. Apenas no espectro da epifargenina é possível observar um simpleto em  $\delta$  5,90 referente ao átomo de hidrogênio metilênico do grupo metilenodioxílico.

Lignóides já foram encontrados em diferentes órgãos de diversas Angiospermae, inclusive em Piperaceae, apresentando grande diversidade estrutural. As lignanas eudesmina e a epifargenina são, pela primeira vez, isoladas e identificadas do extrato hexânico de folhas de *P. lucaeanum*.

### CONCLUSIONES

A família Piperaceae não é a principal produtora dessa classe de substância, porém muitas lignanas são encontradas em espécies dessa família, como *Piper cubeba*, *Piper wightii*, *Piper regnelli* e *Piper lucaeanum* var. *grandifolium* agora também faz parte desse grupo.

## FINANCIAMIENTO

Capes

## BIBLIOGRAFIA

1. Meira Neto, J.A.A. e Martins, F.R., 2003, Estrutura dos sub-bosque herbáceo-arbustivo da mata da silvicultura, uma floresta estacional semidecidual no município de Viçosa-MG. R. Árvore. 27(4), 459-471.
2. Pereira, F.G., 2011, *Estudos Quimiotaxonômicos Comparativos em Piper L.*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
3. Andrade, E.H.A., Guimarães, E.F., Maia, J.G.S., 2009, Variabilidade Química em Óleos Essenciais de Espécies de *Piper* da Amazônia, FEQ/UFPA, Belém.
4. Peixoto, A. C. C.; 2012, Aspectos químicos e atividade biológica de *Piper lucaeum* var. *grandifolium* Yunck.. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
5. Kozera C., Rodrigues, R. R. e Dittrich, V. A. O., 2009, Composição florística do sub-bosque de uma floresta ombrófila densa Montana, Morretes, PR, Brasil. Floresta, 39(2), 323-334.



## PHYTOCHEMICAL GUIDED INVESTIGATION OF ANTI-PLASMODIAL METABOLITES FROM NATIVE *Piper* SPECIES IN BRAZIL

André M. Marques<sup>1</sup>, **Ana Clarissa C. Peixoto**<sup>1</sup>, Renata C. de Paula<sup>2</sup>, Maria Fernanda A. Nascimento<sup>2</sup>, Elsie F. Guimarães<sup>3</sup>, Maria Auxiliadora C. Kaplan<sup>1</sup>

1. Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN), Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil; acpeixoto1@yahoo.com.br
2. Laboratório de bioensaios, Laboratório de Fitoquímica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Minas Gerais, MG, Brasil
3. Instituto de Pesquisa do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

### INTRODUCTION

Natural products have played an important role in the discovery of new biologically active compounds. Endowed of a rich biodiversity, it is reasonable that phytochemical investigations from plants in Brazil may leads to any promising alternative source of new active agents useful for many diseases<sup>1</sup>. Due to the vast portion of Brazilian territory in humid tropical zone, Brazil is one of endemic country of malaria occurrence. Amazonia region is, lonely, responsible for more than 97% of the cases in the country<sup>2</sup>.

### METHODOLOGY

In order to investigate new active anti-plasmodial metabolites, two *Piper* species were chemically studied. The crude extract and sub-fractions of *Piper lucaeanum* were previously assayed against resistant strain of *Plasmodium falciparum*. Also, the essential oils (EO's) obtained from *P. lucaeanum* and *Piper claussonianum* by hydrodistillation were analyzed by GC-MS.

### RESULTS

The main constituents found in *P. lucaeanum* leaf oil were  $\alpha$ -pinene (30.0%),  $\alpha$ -zingiberene (30.4%),  $\beta$ -sesquiphelandrene (11.1%),  $\beta$ -bisabolene (8.9%), while in *P. claussonianum* inflorescences oil nerolidol (23.7%) and linalool (56.5%) were the major volatile components. The oils exhibited relevant biological activity against *Plasmodium falciparum* resistant to chloroquine. *P. lucaeanum* leaf (EO) was the most promising active sample ( $IC_{50} = 2\mu\text{g/mL}$ ), followed by the pure nerolidol ( $IC_{50} = 11.1\mu\text{g/mL}$ ) and linalool ( $IC_{50} = 35\mu\text{g/mL}$ ), separately.

### CONCLUSIONS

These results highlight the potential of *Piper* oils as source of active metabolites.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Professor/Coordinator of PRONEX Rede Malária Project, Alaíde Braga de Oliveira, Capes, CNPq e FAPEMIG

### REFERENCES

- <sup>1</sup>Guantai, E. and Chibale, K., 2011. How can natural products serve as a viable source of lead compounds for the development of new/novel anti-malarials? *Malar. J.*, 10(1), 2-8.
- <sup>2</sup>www.ministeriodasaude.org



## LONG-TERM EFFECTS OF SALICYLIC ACID PRE-TREATMENTS ON PHENOLIC AND MONOTERPENOID OXINDOLE ALKALOIDS INDUCTION IN *Uncaria tomentosa* MICROPLANTS ARE ASSOCIATED WITH ANTIOXIDANT ACTIVITY REGULATION

Silvia Sánchez-Rojo<sup>1</sup>, Carlos M. Cerda-García-Rojas<sup>2</sup>, Fernando Esparza-García<sup>1</sup>, Javier Plasencia<sup>3</sup>, Héctor M Poggi-Varaldo<sup>1</sup>, Teresa Ponce-Noyola<sup>1</sup>, Ana C. Ramos Valdivia<sup>1</sup>

1. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
2. Departamento de Química, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Av. I. P. N. 2508. Col. San Pedro Zacatenco, 07360 México, DF, México
3. Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad y Copilco, 04510, México, D.F., México

### INTRODUCTION

*Uncaria tomentosa* (Willd) DC. contains monoterpene oxindole alkaloids (MOA) sterols, triterpenes and polyphenols with immunomodulatory, cytotoxic, anti-AIDS, and antileukemic activities<sup>1,2</sup>. Recent approaches have revealed that the oxidative stress provoked by diverse culture factors<sup>3,4</sup> and hydrogen peroxide addition<sup>5</sup> induce MOA production in *U. tomentosa* cell and root cultures. Salicylic acid (SA) plays a dual effect regulating the antioxidant system and reactive oxygen species (ROS) levels against biotic and abiotic stresses and can enhance the induction of defense genes during systemic acquired resistance (SAR) and hypersensitive response (HR)<sup>6,7</sup>. In plants, little is known about SA long-term effects on the secondary metabolites production. In this work the changes of SA long-term pre-treatments on antioxidant enzyme response, polyphenols and alkaloids in *U. tomentosa in vitro* plantlets were evaluated.

### MATERIALS AND METHODS

Single node cuttings (snc) of *U. tomentosa* microplants were cultured in sterilized glass vessels contained 25 ml of culture medium added with 0, 1 or 100  $\mu$ M SA (15 snc per treatment) and DMSO as diluent agent of SA, therefore control contained 0.03% (v/v) DMSO. Cultures were incubated for 45 days of pre-treatment at  $25 \pm 2$  °C under long-day photoperiod (16 h light/ 8 h dark) conditions. After that shoots without roots were cultured in a free SA basal medium during a recovery period of 75 d under *in vitro* culture conditions. Superoxide dismutase (SOD), guaiacol peroxidase (POX) and catalase (CAT) activities were determined. Also total phenolic compounds and MOA contents were quantified.

### RESULTS AND DISCUSSION

In *U. tomentosa* pre-treated microplants low concentration of SA (1  $\mu$ M) increased phenolic compounds content in 1.09 folds but high concentration (100  $\mu$ M) showed no changes compared with controls. Phenolic compounds induction was SA dose-dependent, the same as reported in *Salvia miltiorrhiza* cell cultures<sup>8</sup> and *Panax ginseng* treated roots<sup>9</sup>. With low SA pre-treatment (1  $\mu$ M) increases of pentacyclic MOA content (1.32 folds) were associated with elevated POX activity (0.69 folds) and phenolic compounds (1.32 folds), while with high concentration of SA increases on tetracyclic MOA content (0.61 folds) were associated with the inhibition of SOD (32.06 %) and CAT (32.23 %) activities. SA could induce differential accumulation of MOA via increases on ROS as a result of antioxidant enzymes regulation.

## CONCLUSIONS

Low SA pre-treatment (1  $\mu$ M) increased POX activity, pentacyclic MOA content, and phenolic compounds, while SA 100  $\mu$ M increased tetracyclic MOA content and decreased SOD and CAT activities.

## REFERENCES

1. Keplinger K, Laus G, Wurm M, Dierich MP, Teppner H (1999) *J Ethnopharmacol* 64: 23-34
2. Laus G, Brössner D, Keplinger K (1997) *Phytochem* 45: 855-860
3. Luna-Palencia GR, Huerta-Heredia AA, Cerda-García-Rojas CM, Ramos-Valdivia AC (2013) *Biotechnol Lett* DOI 10.1007/s10529-012-1128-8
4. Trejo-Tapia G, Sepúlveda-Jiménez G, Trejo-Espino JL, Cerda-García-Rojas CM, de la Torre M, Rodríguez-Monroy M, Ramos-Valdivia AC (2007) *Biotechnol Bioengineer* 98: 230-238
5. Huerta-Heredia AA, Marín-López R, Ponce-Noyola T, Cerda-García-Rojas CM, Trejo-Tapia G, Ramos-Valdivia AC (2009) *Eng Life Sci* 2009: 211–218
6. Hayat S, Hayat S, Irfan M, Ahmad A (2010) *Environ Exper Bot* 68: 14-25
7. Rivas-San VM, Plasencia J (2011) *J Exp Bot* 3321-3338
8. Dong J, Wan G, Liang Z (2010) *J Biotechnol* 148: 99-104
9. Ali MB, Hahn EJ, Paek KY (2007) *Molec* 23: 601-621



## EFFECTO DE LA ALTITUD SOBRE EL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL DE *Pimenta dioica* (L) MERR., PROV. DE CHIRIQUÍ

Morales V., Viviana<sup>1</sup>, de Guevara, V. <sup>1</sup>, Olmos, J. P.<sup>2</sup>, Prado, J.<sup>2</sup>

1. Universidad Autónoma de Chiriquí/CIPNABIOT, David, Chiriquí; vivianamv@gmail.com

2. Universidad Autónoma de Chiriquí/CIPNABIOT, David, Chiriquí

### INTRODUCCIÓN

La *Pimenta dioica* es un árbol de hojas perennes de aproximadamente 20 m de altura. Su distribución abarca el neotrópico, desde el sureste de México hasta Centroamérica y a través de todo el Caribe. Sus frutos y hojas se utilizan popularmente como condimento, fragancia, carminativo, fungicida, estimulante, reumatismo, dolores de estómagos, y diabetes. También presenta usos como te refrescante, se emplea en estructura dentaria en materiales con óxido de zinc-eugenol (ZOE), así como para los hongos de los pies.

De los extractos crudos de hojas se han podido aislar aceites esenciales (AEs), compuestos de naturaleza alilbenceno, por lo que son considerados biomarcadores y responsables de actividades antiinflamatoria, antialérgica y analgésica. Dado sus múltiples aplicaciones se hace necesario establecer algunos criterios para obtener un mayor rendimiento de los extractos, en particular de los aceites esenciales.

Este trabajo determina la composición y propiedades físicas y fitoquímicas del metabolito secundario mayoritario (AEs), aislado de las hojas de *Pimenta dioica* por hidrodestilación y propone un estudio comparativo del efecto de la altitud sobre el porcentaje de rendimiento de AEs de esta especie en la provincia de Chiriquí.

### MÉTODOS

El material vegetal de *Pimenta dioica*, se colecta en tres viveros a altitudes de 34, 144 y 278 msnm, en David, Dolega y Bugaba, respectivamente, Provincia de Chiriquí, Panamá, en condiciones similares de cultivo.

Los extractos crudos se obtuvieron por hidrodestilación durante 4 horas de las hojas secas y molidas. Los AEs se extraen con cloroformo, deseca y concentra a presión reducida. Se lleva a cabo un análisis de los micro y macro nutrientes de las hojas y de las propiedades físicas y fitoquímicas del aceite esencial mayoritario. Se cuantifica en un Shimatzu CG-14B con detector FID, columna capilar Omega Wax 320. El espectro IR se obtuvo mediante espectrofotómetro Shimatzu FTIRAffinity-1, la estructura química se determina por H<sup>1</sup>-RMN, en un equipo Jeol 400MHz.

### RESULTADOS, DISCUSIÓN, CONCLUSIONES

Se confirma por RMN, que el metabolito secundario volátil mayoritario presente en los tres sitios de colecta, es el 4-alil-2-metoxibenceno. Los porcentajes de rendimiento (m/m) del AEs de las hojas de *P. dioica* fueron 0.71, 0.42 y 0.41 correspondiente a altitudes de 32, 127 y 245 msnm respectivamente. Los análisis de micro y macro nutrientes no mostraron diferencia significativa del material vegetal colectado en los tres sitios. El análisis por CG del 4-alil-2-metoxibenceno mostró la presencia de un 80% del alilbenceno en las hojas de *P. dioica* colectada en el sitio de mayor altitud, Bugaba, sin embargo en David y Dolega, con 63% y 65 % presentaban valores similares. Mediante la aplicación estadística de contraste de significancia, el análisis de varianza ANOVA determinó que la altitud puede ser un factor que influye directamente en el rendimiento de AEs de *P. dioica*.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Duke, J. Bogenschutz-Godwin. M., Duke, P., 2002. Handbook of Medical Herbs. 2da Ed. Florida CRC press LLC. pp 13-14
2. Leyva, M., Tacoront, J., Marquetti<sup>3</sup>, M. 2007. Composición química y efecto letal del aceite esencial de *Pimenta racemosa* (Myrtales: Myrtaceae) sobre *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) Rev Cubana Med Trop. ;59(2):
3. Sarker, S. Latif, Z. Gray, A. 2006. Natural Products Isolation. 2da Edición. Methods in Biotechnology. Humana Press, Totowa, New Jersey. pp.61



## SECONDARY METABOLITES CHEMICAL FINGERPRINT IN *Rhamnus* spp. USING VALIDATED HPLC ASSAY

**Giuseppe Carlucci**, Francesco Epifano, Salvatore Genovese, Gerardo Bellino, Marcello Locatelli

Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara, Via dei Vestini 31, 66100 Chieti (CH), Italy; g.carlucci@unich.it

### INTRODUCTION

*Rhamnus* spp. is known to contain active anthraquinones secondary metabolites but the presence of oxyprenylated ones is still not reported.

### METHODOLOGY AND RESULTS

Prenylation is the chemical or enzymatic addition of a terpenyl moiety to an accepting molecule that occurs in nature in plant families like Rutaceae, Compositae, Apiaceae, Guttiferae, Leguminosae. As continuation of our studies [1-3], a new method [4] was validated to quantify these analytes in plant extracts after extraction with *n*-hexane and methanol using a ODS column, water and methanol (1% formic acid, v/v) as mobile phase at 0.7 mL min<sup>-1</sup> in gradient elution. Quantitative analyses, at 435 nm, revealed LOQ of 0.5 μM and linearity up to 125 μM. Precision values ranged from 0.2% to 12.9% while trueness from 12.2% to 12.7%.

### CONCLUSION

With this validated assay, we report herein the determination of seven secondary metabolites from the bark and fruits of *Rhamnus* and *Fallax* species. This is the first comparative study for the titled compounds.

### REFERENCES

1. Locatelli M. et al., *Phytochemistry Letters* (2009) 2:223-226.
2. Genovese S. et al. *Phytochemical Analysis* (2010) 21:261–267.
3. Locatelli M. et al., *Natural Product Communication* (2011) 6:1275-1280.
4. Locatelli M. et al., *Journal of Chromatography A* (2012) 1225:113–120.



## COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Hyptis suaveolens* L. (POINT) DE LOS LLANOS VENEZOLANOS

N. Rios, R. Márquez, X. Mendoza, T. Díaz, L. Rojas, J. Carmona, C. Yánez

Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 2013; nurby1728@hotmail.com

El género *Hyptis* (Lamiaceae) se compone de 694 especies, distribuidas principalmente en América latina (Arrigoni *et al*, 2008), en Venezuela se ubican en las sabanas de los llanos (Trevisán *et al*, 2009). *Hyptis suaveolens* comúnmente conocida como "mastranto" o "macusa", es utilizada para el tratamiento de infecciones gastrointestinales, calambres, infecciones de la piel, e infecciones respiratorias (Azevedo *et al*, 2002; Akinola *et al*, 2009). La composición química del aceite esencial obtenido de las hojas y flores de *Hyptis suaveolens*, recolectada en Guasdualito, estado Apure, fue obtenida por hidrodestilación empleando una trampa de Clevenger (0,1% de rendimiento hojas y 0,12% de rendimiento flores). El aceite se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) en un equipo HP GC-MS System modelo 5973 identificando cuarenta y dos compuestos (100,1% de la muestra) en las hojas, de los cuales los tres mayoritarios fueron 2,6-dimetoxi-fenol (19,2 %), fenchone (18,6%), y biciclogermacrene (12,8%), mientras que en las flores fueron identificados treinta y ocho compuestos (98,79% de la muestra) siendo los tres mayoritarios biciclogermacrene (18,8%), fenchone (16,2%) y 1,8-cineole (13,4%). La evaluación de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con discos contra bacterias de referencia internacional (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecali* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357, *Salmonella* Typhi CDC 57, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853), mostró inhibición del desarrollo de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* Typhi a una CIM de 400µg/ml; 500µg/ml y 500µg/ml, respectivamente para el aceite de las hojas, mientras que en el caso del aceite obtenido de las flores se observó inhibición de *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* Typhi a una CIM de 500µg/ml para cada una. Es interesante observar que la composición química del aceite difiere en las partes aéreas de la planta influyendo en la actividad antibacteriana. El presente trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) identificado con el código FA-485-10-08-F.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Akinola O, Flamini G, Isiaka A, And Olayinka E, (2009). Essential oil –bearing plants from Nigeria; Studies on *Vernonia perrottettii* (leaf and stem bark), young leaves from *Eucalyptus descaisneana* and immature leaves of *Hyptis suaveolens*. The journal of essential oil research. 21 (04), 154-158.
2. Arrigoni M, Antonioli A, Campos D, Blank A, and Alves P, (2008). Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (Lamiaceae) genotypes. Phytomedicine. 15 (5), 334-339.
3. Azevedo N, Campos I, Ferreira H, Portes T, Seraphin J, Realino P, Santos S, and Ferri P, (2002). Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian cerrado. Biochemical systematics and ecology. 30, 205-216.
4. Trevisán T, Armas M, And Juan M, (2009) Un modelo matricial para la dinámica poblacional de *Hyptis suaveolens*, una maleza anual, (Tesis de Pre-Grado). Facultad de Farmacia y Bioanálisis Universidad de Los Andes (ULA), Mérida –Venezuela.





## DITERPENOS DE *Guarea guidonia*

Hernández Vanessa<sup>1</sup>, **Mora Flor**<sup>1</sup>, Malafronte Nicola<sup>2</sup>, Meléndez Pablo<sup>1</sup>, De Tommasi Nunziatina<sup>2</sup>

1. Departamento de Medicamentos Orgánicos, 5101, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela; vanessah@ula.ve

2. Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Biomediche, 84100, Università di Salerno, Salerno, Italia

### INTRODUCCIÓN

Especies de *Guarea* (Meliaceae) se encuentran distribuidas en América y África. Este género ha sido sujeto a un gran número de investigaciones y es conocido como una fuente rica de metabolitos secundarios, incluyendo, limonoides, sesquiterpenos, di y triterpenos y esteroides. *Guarea guidonia* L. Sleumer, es un árbol utilizado en medicina tradicional como abortivo, agente insecticida y en el tratamiento de reumatismos. Extractos de las semillas de *G. guidonia* han mostrado actividad anti-inflamatoria y contra el virus de la seudorrabia. Varios sesquiterpenos y cumarinas han sido aislados de la corteza, hojas y tronco de *G. guidonia*.

### METODOLOGÍA Y RESULTADOS

En el curso de esta investigación, a partir de las hojas secas de *G. guidonia*, recolectada en la Reserva Forestal Caparo (Barinas-Venezuela), se preparó un extracto alcohólico. El mismo fue fraccionado a través de cromatografía de alta resolución (HPLC) obteniéndose cuatro terpenos relacionados con el Emmottene, cuyas estructuras fueron elucidadas a través de diferentes técnicas espectroscópicas.



## COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Morella parvifolia* (BENTH.) PARRA-O. DE LOS ANDES VENEZOLANOS

Flor D. Mora<sup>1</sup>, Bladimiro Silva, Luis B. Rojas<sup>2</sup>, Juan Carmona A.<sup>1</sup>

1. Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, 5101, Venezuela

2. Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, 5101, Venezuela

### INTRODUCCIÓN

Venezuela es un país rico en biodiversidad. La especie *Morella Parvifolia*, constituye un ejemplo de esta diversidad, pertenece a la familia Myricaceae, la cual es rica en aceites esenciales. El estudio del aceite esencial de *M. pubescens* es el único reportado de este género y su componente mayoritario es el B-germacreno (~32%). El presente trabajo reporta la composición química del aceite esencial de *Morella parvifolia* (Benth.) Parra-O. colectado en Venezuela.

### METODOLOGÍA Y RESULTADOS

El aceite esencial de las hojas frescas de *M. parvifolia* fue obtenido por hidrodestilación usando un aparato tipo Clevenger. La planta fue colectada en mayo 2012 en el páramo de Gavidia, estado Mérida, Venezuela, produciendo un 0.5 % del aceite. Los constituyentes químicos fueron identificados por análisis GC-MS. Cuarenta y un compuestos (los cuales representan 93.4 % de la muestra) fueron identificados. Los constituyentes mayoritarios fueron  $\alpha$ -bisabolol (34.51%) y  $\alpha$ -pineno (23.35 %).

### CONCLUSIONES

Se realizó un análisis de actividad microbiológica sobre cepas gram (+) y gram (-) pero no se observó actividad antibacteriana para este aceite.



## EVALUACIÓN ANTI-*Helicobacter pylori*, ANTI-INFLAMATORIA, Y TOXICOLOGICA DE LOS EXTRACTOS DE RAÍCES DE *Hippocratea celastroides*

Griselda García<sup>1</sup>, Alexandre Cardoso-Taketa<sup>1</sup>, Antonio Monroy<sup>2</sup>, Sara García<sup>2</sup>, Pablo Nuñez<sup>1</sup>, Wendy Escobedo<sup>3</sup>, Irma Romero<sup>3</sup>, María Luisa Villarreal<sup>1</sup>

1. Centro de Investigación en Biotecnología. Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa, Cuernavaca 62209, Morelos, México
2. Facultad de Farmacia. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001. Col Chamilpa, Cuernavaca 62209, Morelos, México
3. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. Edificio D, 1er piso. Circuito Interior de Ciudad Universitaria. México, 04510, D. F. México

### INTRODUCCIÓN

*Hippocratea celastroides* comunmente conocida en México como "cancerina, se utiliza en la medicina tradicional para el tratamiento de infecciones gastrointestinales, procesos inflamatorios y lesiones (Castillo, 2007; INI, 1994; Sanabria-Diago, 1986). Se ha identificado la presencia de friedeline, friedelan-3 $\beta$ -ol (epifriedelinol), 3-oxo-lup-20-en-30-ol y lup-20-en-3 $\beta$ ,30-diol, mientras que en raíces; alditol galactitol (González, 1989). Celastroidine A (C<sub>50</sub>H<sub>74</sub>O<sub>5</sub>) como Diels–Alder adduct de un triterpeno más un diterpeno y celastroidine B (C<sub>40</sub>H<sub>60</sub>O<sub>4</sub>) como un beyerano. No hay reportes previos de alguna actividad biológica de extractos de esta planta. (Jiménez-Estrada, 2000). El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antiinflamatoria, anti-*Helicobacter pylori*. Así como la toxicidad aguda y subaguda de los extractos de raíz de *Hippocratea celastroides*.

### METODOLOGÍA

El extracto metanólico se sometió a un proceso de extracción ácido-base para obtener las fracciones acetate de etilo y acuosa. Para probar la actividad anti-inflamatoria tanto del extracto total como sus fracciones, se indujo edema en oreja de ratones Balb-C con TPA. La actividad anti-*Helicobacter pylori in vitro*, se probó mediante el método de dilución en caldo. El ensayo de toxicidad aguda *in vivo* se realizó en ratones hembras Balb-C a dosis de 10 a 5000 mg/kg. El ensayo de toxicidad subaguda se realizó en ratones machos y hembras Balb-C con dosis de 2000 a 5000 mg/kg de peso. Se estudiará la actividad *in vivo* anti-*Helicobacter pylori* y anti-gastritis en perros domésticos. El diagnóstico se realizará mediante endoscopia esofagogástrica, estudios de histopatología y PCR. Se administrará el extracto etanólico seco de *H. celastroides* durante 8 semanas para probar efectividad y seguridad terapéutica.

### RESULTADOS

Se identificaron alcaloides tanto en el extracto metanólico de raíz de *H. celastroides* como en su fracción acuosa. La actividad antiinflamatoria fue significativa para el extracto metanólico y la fracción acuosa. Tanto el extracto metanólico como su fracción acetate de etilo inhibieron el crecimiento de *H. pylori* con una MIC de 31.5  $\mu$ g/ml. La LD<sub>50</sub> del extracto metanólico y de la fracción acetato de etilo fueron indeterminadas. La LD<sub>50</sub> de la fracción acuosa fue de 1233.33 mg/kg. Durante la administración subaguda del extracto etanólico no se observaron mortalidad ni signos de toxicidad.

### DISCUSIÓN

Los resultados proveen evidencia preliminar de la Buena actividad anti-*Helicobacter pylori* en comparación con reportes de otras plantas medicinales (Castillo-Juárez, 2009; Zaidi, 2009; Souza, 2009, Mahady, 2002). La actividad se atribuye a la fracción rica en triterpenos, coincidiendo con reportes de actividad antibacteriana de triterpenos (Ochi, 2005). La actividad antiinflamatoria es igual a la dexametazona. Dicha actividad es complementaria para contrarrestar los efectos de la infección por *H. pylori*, la cual cursa con un componente inflamatorio importante (Teng, 2013).

## CONCLUSIONES

*H. celastroides* muestra actividad antiinflamatoria y anti-*Helicobacter pylori*, confirmando sus usos etnobotánicos, además al ser una planta no tóxica y segura para su administración oral, se considera prometedora como herramienta terapéutica contra la infección por *Helicobacter pylori*.

## FINANCIAMIENTO

El proyecto fue financiado por CONACYT 80980.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Castillo E. P. y Monroy O. C. Plantas Medicinales utilizadas en el estado de Morelos. 2ª Ed. México. Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2007.
  2. Castillo-Juárez I, González V, Jaime Aguilar H, Martínez G, Linares E, Bye R, et al. Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *J Ethnopharmacol.* 2009;122:402-5.
  3. González A. G., Bazzochi I. L., Ravelo G., Luis J. G. Triterpenos de *Hippocratea celastroides* (Celastraceae). *Rev Latinoamer Quím* 1989;20:17.
  4. Instituto Nacional Indigenista (INI). "Barajilla (*Hippocratea celastroides*) y "Cancerina" (*Hippocratea excelsa*). Pag. 190, 298. A. Argueta-Villamar, L. M. Cano-Asseleih, y M. E. Rodarte, eds., Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Vol 1. Instituto Nacional Indigenista. México, 1994.
  5. Jiménez-Estrada M. R., Reyes-Chilpa S., Hernández-Ortega E., Cristobal-Telésforo L., Torres-Colín C. K., Jankwsky A. et al. Two novel diels alder adducts from *Hippocratea celastroides* roots and their insecticidal activity. *C J Chem* 2000;78:248-254.
  6. Mahady G. B, Pendland S. L, Yun G, Lu Z. Z. "Turmeric (*Curcuma longa*) and curcumin inhibit the growth of *Helicobacter pylori*, a group 1 carcinogen". *Anticancer Res.* 2002;22:4179-81.
  7. Ochi T, Shibata H, Higuti T, Kodama K. H, Kusumi T, Takaishi Y. "Anti-*Helicobacter pylori* compounds from *Santalum album*". *J Nat Prod.* 2005;68:819-24.
  8. Sanabria-Diago, O. L. El uso forestal en la comunidad de Xul en el sur de Yucatán. *Etnoflora Yucateca* 1986;2.
  9. Souza Mdo C, Beserra AM, Martins DC, Real VV, Santos RA, Rao VS, et al. In vitro and in vivo anti-*Helicobacter pylori* activity of *Calophyllum brasiliense*. *J Ethnopharmacol.* 2009;123:452-8.
  10. Teng GG, Wang WH, Dai Y, Wang SJ, Chu YX, Li J. Let-7b Is involved in the Inflammation and Immune Responses Associated with *Helicobacter pylori* Infection by Targeting Toll-Like Receptor 4. *PLoS One.* 2013;8:e56709.
- Zaidi S. F, Yamada K, Kadowaki M, Usmanghani K, Sugiyama T. "Bactericidal activity of medicinal plants, employed for the treatment of gastrointestinal ailments, against *Helicobacter pylori*". *J Ethnopharmacol.* 2009;121:286-91. View at Publisher. View at PubMed.



## PHYTOCHEMICAL AND ANTIHYPERGLYCEMIC STUDIES OF *Citrus medica* L. (ETROG) GROWING IN EGYPT.

Taha S. El-Alfy<sup>1</sup>, **Mona H. Hetta**<sup>2</sup>, Nemat Z. Yassin<sup>3</sup>, Rehab F. Abdel Rahman<sup>3</sup>, Esraa M. Kadry<sup>4</sup>

1. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Cairo University, Cairo, 11562
2. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Beni-Suef University, Beni-Suef, 62514
3. Department of Pharmacology, National Research Center, Dokki, Giza, 12622
4. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, MUST University, Cairo, Egypt

### METHODOLOGY AND RESULTS

From 70% methanol extract of the defatted powdered leaves of *Citrus medica* L. var. Etrog,  $\beta$ -sitosterol-glucoside (1), sakuranetin (2), 7-O-methylaromadendrin (3) dihydrokaempferide (4), hesperitin (5) and rutin (6) were isolated and identified by physicochemical and spectral data (UV, MS and NMR). Compounds 2-4 are newly reported from the genus and 5 is newly reported from the species. The extract was safe up to 2g/kg.bwt. The histopathological changes on liver, kidney and pancreas were recorded. The antioxidant activity was calculated to 102.9 $\mu$ g/ml. The antihyperglycemic activity exerted a significant reduction in blood glucose level to (105.2 $\pm$ 8.35) in diabetic rats after one month of treatment with doses of 200 mg/kg and to (87.4 $\pm$ 6.30) at 400mg, when compared to Gliclazide (110.8 $\pm$ 7.24) and control (172.3 $\pm$ 2.09) (P < 0.05).

### CONCLUSION

The methanol extract of the defatted powdered leaves of Etrog exhibits a significant antihyperglycemic activity which could be attributed to the presence of flavonoid compounds.



## ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA CORTEZA DE *Acacia farnesiana* EN DOS EPOCAS CLIMATICAS - ESPECIE USADA PARA EL TRATAMIENTO DEL PALUDISMO

Ada Daza B.<sup>1</sup>, Maritza Rojas C.<sup>1</sup>, Giovanni Garavito C.<sup>1,2</sup>, Pilar Luengas C.<sup>1</sup>, **Javier Rincón V.<sup>1</sup>**

1. Grupo de investigación "Principios Bioactivos en Plantas Medicinales", Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, carrera 30 N° 45-03. Bogotá D.C., Colombia; jrincov@unal.edu.co
2. Grupo de investigación FAMETRA.

### INTRODUCCIÓN

El importante papel de especies vegetales como fuente de principios activos para el tratamiento de la malaria ha conllevado al estudio de especies usadas en la medicina tradicional y popular, algunas especies del género *Acacia*, son utilizadas tradicionalmente en decocciones e infusiones en el diferentes continentes como el Africano (Muthaura *et al.*, 2007). En Colombia se ha reportado y estudiado el uso de decocciones de hojas y corteza de *Acacia farnesiana* para el tratamiento de la malaria (Garavito *et al.*, 2006). El presente trabajo es una contribución al estudio fitoquímico de la corteza *Acacia farnesiana* colectada en dos condiciones climáticas en Colombia, época seca y de lluvia para este fin se recolectó el material vegetal en Armero-Guayabal, Departamento Tolima (Colombia).

### METODOLOGÍA

El extracto etanólico y fracciones obtenidas utilizando solventes de diferente polaridad, fueron caracterizadas por métodos analíticos como cromatografía en capa delgada (CCD) (Wagner H. & Bladt S., 2001), HPLC y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) (Silverstein *et al.*, 2005). El contenido de taninos fue determinado por la técnica de nitroferricianuro de potasio-cloruro férrico en medio ácido (Price M. & Butler L., 1977) y la detección de compuestos azufrados, que se detectaron de forma organoléptica, fue realizada utilizando las pruebas de nitroferricianuro de sodio y acetato de plomo (USP, 2011).

### RESULTADOS

Teniendo en cuenta el estudio fitoquímico preliminar del extracto etanólico de la corteza de esta especie vegetal y de las fracciones obtenidas en éter de petróleo, acetato de etilo y butanol se detectó la presencia de esteroides, terpenos y flavonoides por cromatografía en capa delgada. La presencia de taninos se evidenció de forma más clara en el extracto etanólico y en las fracciones de mayor polaridad obtenidas en la época seca y los compuestos azufrados se detectaron principalmente en la época de lluvia.

### CONCLUSIONES

Al analizar las fracciones por HPLC se observó mayor presencia de compuestos orgánicos en la época de lluvia que están siendo sometidos a identificación.

### FINANCIAMIENTO

Universidad Nacional de Colombia- Dirección de investigación- Sede Bogotá (DIB)

### BIBLIOGRAFÍA

1. Garavito, G., Rincón, J., Arteaga, L., Hata, Y., Bourdy, G., Gimenez, A., Pinzón, R., & Deharo, E. (2006). Antimalarial activity of some Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 460–462.
2. Muthaura, C.N., Rukunga, G.M., Chhabra, S.C., Mungai, G.M., & Njagi, E.N.M. (2007). Traditional antimalarial phytotherapy remedies used by the Kwale community of the Kenyan Coast, *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 377–386.
3. Price M. & Butler L. (1977). Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal Agricultural Experiment Station Technical*, 25, 1268 – 1273.
4. Silverstein, R., Webster, F., & Kiemle, D. (2005). Spectrometric identification of organic compounds 7a ed. USA: John Wiley & Sons, Inc.
5. Wagner H. & Bladt S. (2001). Plant drug analysis, a thin layer chromatography atlas. Editorial springer. New York, 384 p.



## BIFLAVONOIDS, MAIN CONSTITUENTS FROM *Garcinia bakeriana* LEAVES

Ahmed Al-Shagdari<sup>1</sup>, Adonis Bello Alarcón<sup>1</sup>, Osmany Cuesta-Rubio<sup>1</sup>, Anna Lisa Piccinelli<sup>2</sup>, Luca Rastrelli<sup>2</sup>

1. Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL), Universidad de La Habana, La Habana, Cuba

2. Dipartimento di Farmacia, Via Giovanni Paolo II 84084 Fisciano, Salerno, Italy

### INTRODUCTION

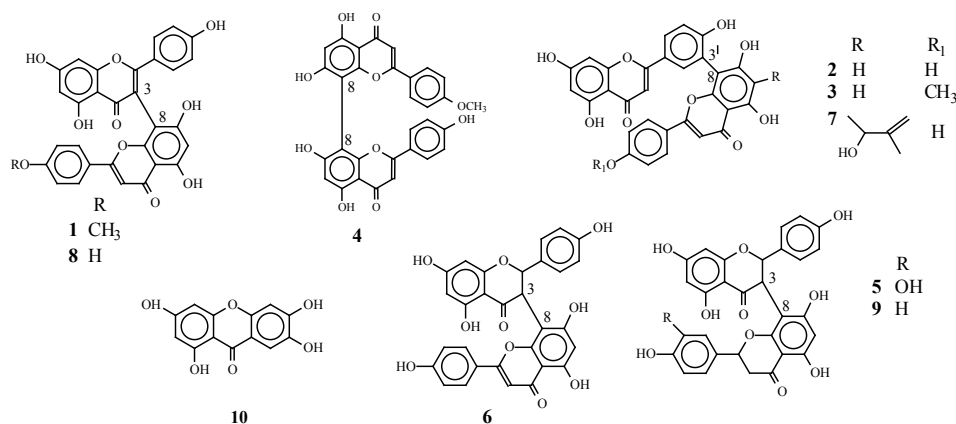
The genus *Garcinia* (Clusiaceae) is comprised of about 550 species, mostly trees, distributed in tropical areas of Africa, America, Polynesia and Asia, mainly. Some of members of this genus are extensively used in traditional medicine in various parts of the world. Previous phytochemical studies have revealed it to be a rich source of secondary metabolites including biflavonoids, acylphloroglucinols, triterpenes and xanthenes, principally. Some of them are known to display a variety of biological activities, such as antimicrobial, cytotoxic, antioxidant, anti-HIV and anti-inflammatory activities.

### METHODS

Leaves of *Garcinia bakeriana* Urb. were collected in the Botanic Garden of Santa Clara (Villa Clara Province, Cuba), in November, 2008. Isolation was performed using a combination of CC (Sephadex LH-20) and HPLC (C18 reversed phase). All the structures were elucidated by spectroscopic methods including 1D and 2D NMR experiments as well as ESIMS analysis.

### RESULTS

The aim of this investigation was to identify the main constituents of *Garcinia bakeriana* Urb., a rare Cuban endemic plant. A new biflavonoid, 4'''-O-methyl-13,118-biapigenin (1), together with 9 known compounds, namely, the biflavonoids amentoflavone (2), 4'''-O-methylamentoflavone (3), 4'-O-methylcupressuflavone (4), GB-2a (5), volkensiflavone (6), 6''-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl)-amentoflavone (7), 13,118-biapigenin (8), GB-1a (9) and the xanthone norathyriol (10), were isolated from the leaves of this species. These results showed that isolated biflavonoids possess a C-C interflavonoid linkage between apigenin units or its derivatives.



## DISCUSSION

*G. bakeriana* leaves seem to be a rich source of biflavonoids and all of them showed to be apigenin-apigenin dimmers or closely related derivatives with a C-C linkage involving A (C8-C8), C and A (C3-C8) or B and A (3'-8) rings, which is common for most of the biflavonoids in the genus *Garcinia*. Their main chemical components were well different to those isolated (acylphloroglucinol derivatives) from *G. aristata* fruits.

## REFERENCES

1. Kai-Wei L, A-Mei H, Shyh-Chyun Y, Jing-Ru W, Tzyh-Chyuan H, Yeong-Shiau P, Chun-Nan L. (2012) Cytotoxic and antioxidant constituents from *Garcinia subelliptica*. *Food Chemistry*, 135, 851-859.
2. Cuesta-Rubio O, Padron A, Velez CM, Pizza C, Rastrelli L. (2001) Aristophenones A and B. A new tautomeric pair of polyisoprenylated benzophenones from *Garcinia aristata* *Journal of Natural Products*, 64, 973-975.
3. Colovic M, Caccia S. (2008) Liquid chromatography-tandem mass spectrometry of 13,118-biapigenin, the major biflavone in *Hypericum perforatum* extracts. *Journal of Chromatography B*, 863, 74-79.
4. Nguyen HD, Trinh BTD, Nguyen Lien-Hoa D. (2011) Guttiferones QS, cytotoxic polyisoprenylated benzophenones from the pericarp of *Garcinia cochinchinensis*. *Phytochemistry Letters*, 4, 129-133.





## FLAVONOIDS AND CINNAMIC ACID DERIVATIVES FROM BOLIVIAN *Baccharis* SPECIES

**Giovanna Almanza**, Lily Salcedo, Yonny Flores, Marcela Melgarejo, Angela San Martin, Cecilia Curi, Alberto Calle, Santiago Tarqui

### INTRODUCTION

The genus *Baccharis* (Compositae) comprises about 400 species distributed all over South America, of them, 20% are locally used for medicinal purposes like gastric ulcers, renal and urinary infections, liver diseases and rheumatism, among others, attracting the attention of several scientific groups which investigated this genus chemically and pharmacologically mainly for their anti-inflammatory, antiviral, anti-arthritic, antimicrobial and antioxidant properties.

The chemical research of *Baccharis* genus showed mainly cinnamic derivatives, flavonoids and diterpenes as major secondary metabolites. In Bolivia there are around 30 *Baccharis* species which grow mainly in the Andean Highlands over the 2500 meters above sea level, these plants suffer high exposure to different environmental stress conditions like cold weather, short of rain falls (arid soils) and high UV solar radiation. As a consequence of those oxidative conditions the native plants have to develop strong adaptive mechanisms, among them they can produce antioxidant compounds, like phenolic compounds as cinnamic derivatives and flavonoids, very interesting compounds that showed several important pharmacological properties.

In this sense our research group studied the cinnamic derivatives and flavonoids from 6 *Baccharis* species from Bolivia (*Baccharis latifolia*, *B. papillosa*, *B. boliviensis*, *B. pentlandii*, *B. thola* and *B. leptophylla*).

### METHODOLOGY

The plants were submitted to a preliminary chemical study showing high presence of phenolic compounds mainly flavonoids, then were submitted to a spectroscopic UV study showing the typical absorbance in the UVB (290-320 nm) and UVA (320-400 nm) for flavonoids. In addition they were submitted to an antioxidant screening showed good results in ABTS method which detects scavengers of free radical.

### RESULTS

Based on those data we developed two methods to obtain extracts concentrated in phenolic compounds, from those extracts we isolated 10 flavonoids from *B. latifolia*, 5 flavonoids and 2 cinnamic derivatives from *B. papillosa*, 4 flavonoids from *B. boliviensis*, 3 flavonoids from *B. pentlandii*, 2 flavonoids and 1 cinnamic derivative from *B. thola* and 3 flavonoids from *B. leptophylla*. The isolated flavonoids are polyoxygenated (like luteoline) and from *B. pentlandii* and *B. boliviensis* are polymethoxylated in the ring A which is interesting for further anticancer studies. In the case of *B. latifolia* the flavonoids isolated (luteoline and acacetin) are the main responsible of the anti-inflammatory properties and finally the flavonoids and cinnamic derivative (drupanin) isolated from *B. papillosa* are the main responsible of its photoprotector capacity. In all the cases complementary pharmacological studies were developed.

### ACKNOWLEDGEMENT

We are very grateful with SIDA (Swedish International Development Agency), OAS (Organization of American States) and IDH-UMSA funds, for the financial support of this work.



## EFFECTO BIOLÓGICO DE CULTIVOS DESARROLLADOS *in vitro* DE *Lupinus campestris* INDUCIDOS CON METIL JASMONATO SOBRE *Spodoptera frugiperda*

Leticia Reyes Izquierdo, Jesús Arnoldo Sánchez López, Rodolfo Figueroa Brito, Kalina Bermúdez Torres

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI-IPN). Calle CEPROBI No. 6, Col. San Isidro, C.P. 62731 Yauatepec, Morelos, México. Tel: 52557296000 Ext.52528; kbermudes@ipn.mx

### INTRODUCCIÓN

El género *Lupinus* se caracteriza por la presencia de alcaloides quinolizidínicos como parte de una estrategia de defensa en contra de herbívoros. Extractos de AQ de plantas silvestres de *Lupinus campestris* poseen efecto insecticida. El cultivo *in vitro*, es una alternativa para la obtención de metabolitos secundarios (MS). Sin embargo, estos cultivos presentan concentraciones hasta de dos órdenes de magnitud menores que las plantas silvestres. Una alternativa para incrementar la concentración de los MS es la elicitación o inducción. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto biológico del material vegetal de *L. campestris* desarrollado *in vitro* e inducido con metil jasmonato (MeJA) sobre el desarrollo de *Spodoptera frugiperda*.

### METODOLOGÍA

En primer lugar se determinó la etapa de desarrollo en la que la plántula produce la mayor cantidad de AQ, para lo cual se evaluaron por Cromatografía de Gases (GC) los contenidos de AQ de plántulas en diferentes etapas de desarrollo (cotiledones, 1 hoja, 2 hojas). La producción de AQ en plántulas en la etapa que presentó mayores contenidos de AQ fue inducida con MeJA (100µM), evaluándose el efecto del tiempo de exposición (1, 3 y 6h). En una segunda etapa se evaluó el extracto de AQ a 50, 500 y 5000 ppm en ensayos de preferencia y no preferencia sobre larvas del cuarto instar de *S. frugiperda*.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos sugieren que las plántulas con mayor concentración de AQ fueron las de una hoja compuesta (6.8 mg/g). Estas fueron inducidas con MeJA, obteniendo como resultados que la exposición durante 3 h presentó una mayor concentración de AQ (9.5 mg/g), lo que significa un aumento del 55% con respecto al control de 0h (6.1 mg/g). El extracto a 50 ppm fue el más activo, presentando un efecto supresivo (119.43 %) y bajo efecto antialimentario (28.16%) y disuasorio (18.91%). Este extracto a 50 ppm fue más activo que el nimicide 80®, el cual solo presentó un alto efecto antialimentario.

### CONCLUSIONES

Plantas de una hoja presentan mayor concentración de AQ.

La exposición con MeJA a 3h presentó la mayor concentración de AQ.

El extracto a 50ppm es el más activo al presentar efecto supresivo, disuasivo y antialimentario.

### FINANCIAMIENTO

Proyectos: CONACyT 100808, SIP 20120900. Leticia Reyes Izquierdo es becaria CONACYT. Rodolfo Figueroa Brito y Kalina Bermúdez Torres son becarios de COFAA y EDI.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bermúdez Torres K., Martínez Herrera J., Figueroa Brito R., Wink M. y Legal Luc. 2009. Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. *Biocontrol*, 54: 459-466.
- Montes Hernández E. 2010. Perfil de Alcaloides Quinolizidínicos en plantas y cultivos *in vitro* de *Lupinus aschenbornii* Shauer. *Revista Brasileña de Farmacognosia* 21 (5):824-828.
- Zhao J, Davis LC, Verpoorte R, 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances Review*, 23: 283-333.



## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM WHOLE COTTONSEED BY-PRODUCT

Luigi Russo<sup>1</sup>, Vincenzo Barbarulo<sup>1</sup>, Diana Yamile Gallego Villa<sup>2</sup>, Anna Lisa Piccinelli<sup>1</sup>, Luigi Cerrato<sup>1</sup>, Silvana Morelli<sup>1</sup>, Luca Rastrelli<sup>1</sup>

1. Dipartimento di Farmacia, University of Salerno, Via Ponte don Melillo, 84084, Fisciano (SA), Italy

2. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Cra 30 N° 45-03, Bogotá, Colombia

### INTRODUCTION

The whole cottonseed (WCS), a by-product of cotton industry, is the unprocessed and unadulterated oilseed which has been separated from the cotton fiber. WCS has been used as a supplemental feedstuff for cattle, sheep and other ruminants for over 100 years, because it can be used as a practical source of supplemental protein, forage or grain replacement in ruminant diets to reduce cost of production. The digestion of whole cottonseed in the rumen causes a slow release of nutrients. With the slow release of nutrients, a component of protein is bypass protein. This bypass protein will be available for direct absorption by the animal.

### METHODOLOGY

Whole cottonseed is a by-product of cotton production and acreage is expanding in the North Italy. Whole cottonseed (WCS) was furnished by Cereal Comm Feed Company (Brescia, Italy).

### RESULTS AND DISCUSSION

Whole Cotton Seed was extracted successively with hexane, CHCl<sub>3</sub>, and MeOH. The MeOH extract was partitioned between n-BuOH and H<sub>2</sub>O to afford an n-BuOH soluble portion which was subjected to chromatography on Sephadex LH-20 and HPLC.

Nine phenolic compounds were isolated: quercetin 3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside (1), kaempferol 3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside (2), quercetin 3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside (3), quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (4), kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (5), quercetin 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (6), kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (7), gallic acid (8) and 3,4-dihydroxybenzoic acid (9). The structures and molecular formulae of compounds 1-9 were determined from their ESI-MS spectra, as well as from 1D and 2D <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data. The antioxidant activity of the isolated compounds 1-9 was first tested in TEAC assay. The radical scavenger activity of the tested compounds was expressed as TEAC values. The antioxidative effect of pure compounds 1-9 on the autoxidation of linoleic acid was also determined. The values of AA measured at t 60 and 120 min, employing bleaching of  $\beta$ -carotene as a model system. Membrane lipids are rich in unsaturated fatty acids that are most susceptible to oxidative processes. Especially, linoleic acid and arachidonic acid are the targets of lipid peroxidation. It is generally thought that the inhibition of lipid peroxidation by antioxidants may be due to their free radical scavenging activities. All tested compounds were weakly active in this test with respect to the reference compound BHT.

## CONCLUSIONS

The range of phenolic compounds present in WCS could improve the quality and shelf life of farm products by their ability to inhibit lipid peroxidation. In previous studies we reported seven flavonol glycosides in WCS from Brescia, Italy; however, the antioxidant activity of the all compounds showed lower activity than the synthetic antioxidant BHT, and the quercetin derivatives displayed anyway a good activity with respect to the other kaempferol glycosides in this test.

This response could be associated to the particular chemical composition of the samples, even botanical and geographical factors should be considered; nevertheless, further studies must be done to increase the researcher evidence about potentially antioxidant capacity of the phenolic compounds in products like WCS, should be an increasingly tool in contributing to animal health and productivity.

## BIBLIOGRAPHY

1. Solaiman, S. 2007. Feeding value of whole cottonseed for goats. Notes goats., 07-08, 1-7.
2. Hoffman, P. C. 1998. Whole cottonseed. University of Wisconsin, Extension Cooperative Extension, A3519. In: <http://learningstore.uwex.edu/assets/pdfs/a3519.pdf>
3. Piccinelli A.L., Veneziano A, Passi S., De Simone F., Rastrelli, L. (2007). Flavonol glycosides from whole cottonseed by-product.. Food Chemistry, Vol. 100. Pag.344-349
4. Pratt, D. E. 1992 .In Phenolic Compounds in Food and their Effects on Health; Huang, M. T., Lee, C. Y., Eds.; ACS Symposium Series 507; American Chemical Society: Washington, DC,; Vol. II, pp 54-71.



## CHEMICAL-BIOLOGICAL STUDY OF *Azadirachta indica* A JUSS

Malafrente N.<sup>1</sup>, Vassallo A.<sup>2</sup>, Araque M.<sup>3</sup>, Dal Piaz F.<sup>1</sup>, De Tommasi N.<sup>1</sup>, **Gualtieri M.J.**<sup>4</sup>

1. Dipartimento di Farmacia. Università degli Studi di Salerno, Italia

2. Dipartimento di Scienze. Università degli Studi della Basilicata, Italia

3. Departamento de Parasitología y Microbiología. Universidad de Los Andes, Venezuela

4. Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Organicos. Universidad de Los Andes, Venezuela; gualtieri@ula.ve

### INTRODUCTION

As part of a search for new bioactive metabolites from plants belonging to the Meliaceae family, *Azadirachta indica* A. Juss leaves a phytochemical study was carried out. *A. indica* is native to India, where the plant is variously known as "Sacred Tree," "Heal All," "Nature's Drugstore," "Village Pharmacy" and "Panacea for all diseases but it is cultivated widely in tropical and sub-tropical areas of the world. Branches, fruits and leaves of the Neem tree have been used as food, medicine, cosmetics and insecticides since ancient times. Many bioactive constituents including tetranortriterpenoids (limonoids) have been isolated and identified from Neem tree<sup>1,2</sup>. *A. indica*, elaborates a vast array of bioactive compounds that exhibit potent medicinal properties: immunomodulatory, antiinflammatory, antimutagenic<sup>3</sup>. Recently, gedunin a tetranortriterpenoid isolated *Azadirachta indica* has been shown to have potential *in vitro* antineoplastic properties<sup>4</sup>.

### METHODOLOGY

*A. indica* leaves were defatted with *n*-hexane and successively extracted for 48 h, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>-MeOH (9:1) and MeOH. The study of the extracts was carried out using different chromatographic techniques such as Sephadex LH-20, Silica gel, MPLC and reversed-phase HPLC. The study led to isolation of some pure compounds whose structures were elucidated by 1D- and 2D-NMR Spectroscopy (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>13</sup>C DEPT, DQF-COSY, HSQC, HMBC, ROESY) and confirmed by mass spectrometry.

### RESULTS

From chloroform extract were isolated six new compounds and the known terpenoids such as: deacetilsalannin<sup>5</sup>, azadirachtol<sup>6</sup>, azadirachtolide<sup>7</sup>, gedunin<sup>7</sup>, dehydronimonol<sup>8</sup>, nimonol<sup>8</sup> and 1,3-diacetylvilasinin<sup>9</sup>. On the basis of literature data, the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of *A. indica* extracts was studied. The studies were conducted using the dilution-in-broth method (Mueller Hinton) according to the Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2011). MIC was determined in the range of 0.012–128 mg/mL All the extract were subjected to screening for antimicrobial activity. CHCl<sub>3</sub>:MeOH (9:1) extract of leaves of *A. indica* showed antibacterial activity against Gram-positive bacteria (*S. aureus* 29213, *E. faecalis* 904 and *S. aureus* 906 with a MIC 0.25 mg/mL, and Gram-negative bacteria (*E. coli* 25922, *S. Heidelberg* 175, *K. pneumoniae* 128, *E. coli* 913 with a MIC 0.5 mg/mL).

### REFERENCES

- <sup>1</sup>Akihisa, T., et al., 2009. Melanogenesis Inhibitory, Anti-Inflammatory, and Chemopreventive Effects of Limonoids from the Seeds of *Azadirachta indica* A. Juss. (Neem). *J. Oleo Sci*, 58, 581-594.
- <sup>2</sup>Suresh, G., et al. 1997. Structure of nimonol from fresh whole green leaves of *Azadirachta indica*. *Phytochemistry*. 45, 807-810.
- <sup>3</sup>Manikandan, P., et al., 2008. Evaluation of *Azadirachta indica* leaf fractions for *in vitro* antioxidant potential and *in vivo* modulation of biomarkers of chemoprevention in the hamster buccal pouch carcinogenesis model. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 2332–2343.
- <sup>4</sup>Kamath S.G., et al. 2009. Gedunin, a novel natural substance, inhibits ovarian cancer cell proliferation. *Int J Gynecol Cancer*. Dec;19(9):1564-9
- <sup>5</sup>Koul, O., et al., 2004. Bioefficacy and mode-of-action of some limonoids of salannin group from *Azadirachta indica* A. Juss and their role in a multicomponent system against lepidopteran larvae. *J. Biosci*. 29, 409-416.
- <sup>6</sup>Kraus, W., et al., 1987. Structure determination by NMR of Azadirachtin and related compounds from *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). *Tetrahedron*. 43, 2817-2830.
- <sup>7</sup>Ragasa, C.Y., et al., 1997. Tetranortriterpenoids from *Azadirachta indica*. *Phytochemistry*. 46, 555-558.
- <sup>8</sup>Siddiqui, S., et al., 1984. Isolation of a tetranortriterpenoid from *Azadirachta indica*. *Phytochemistry* 23, 2899-901.



## ANALISI DEL TENORE DI MICOTOSSINE NELLA FILIERA MANGIME-LATTE-FORMAGGIO NELLA REGIONE SICILIA

V. Ferrantelli, A. Vella, C. Porcarello, G. Giangrosso, A. Cicero, A. Macaluso

Area Chimica e Tecnologie Alimentari Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri" Palermo

### INTRODUZIONE

Le aflatossine B1, B2, G1, G2 sono sostanze tossiche prodotte dal metabolismo di funghi del genere *Aspergillus*, che si sviluppano in particolari condizioni ambientali (elevato contenuto di umidità, temperature relativamente elevate) su foraggi insilati, cereali, mangimi aziendali e industriali.

Il rischio per la salute animale conseguente all'eventuale presenza di micotossine in alimenti, è dovuto alla loro azione tossica, e in particolare alla capacità cancerogena e immunosoppressiva dell'aflatossina B1. Gli alimenti d'origine animale, in particolare il latte ed i suoi derivati, possono essere dannosi per la salute umana, in quanto l'eventuale presenza di micotossine nei mangimi, ingeriti dagli animali vengono metabolizzate dagli stessi passando quindi nella secrezione della ghiandola mammaria. E' il caso ad esempio dell'Aflatossina B1 che viene convertita in aflatossina M1 e così trasferita direttamente nel latte.

Visto l'elevato rischio per la salute animale e conseguentemente per la salute umana dovuta alla presenza di micotossine, il Piano Nazionale Residui prevede controlli dell'aflatossina B1 nei mangimi destinati a bovini e ovicaprini e dell'aflatossina M1 nel latte.

La Vastedda della Valle del Belice è un formaggio a pasta filata ottenuto dal latte di ovini di razza Valle del Belice prodotto nell'omonima area geografica che si estende nel territorio delle provincie di Agrigento, Palermo e Trapani. Il prodotto ha ricevuto nel 2008 il riconoscimento DOP. In un'ottica di controllo integrato di filiera, l'indagine qui brevemente introdotta ha avuto per obiettivo la ricerca di aflatossine B1, B2, G1 e G2 in campioni di mangime, e di aflatossina M1 in campioni di latte e formaggio

### METODOLOGIA

Dopo estrazione dalla matrice di interesse, le aflatossine vengono purificate mediante colonne di immunoaffinità e determinate tramite sistema HPLC Agilent Technologies Serie 1200, dotato di rivelatore spettrofluorimetrico (eccitazione 365 nm, emissione 435 nm). Come fase stazionaria è stata utilizzata una colonna Zorbax Eclipse XDB-C18 (Agilent, USA), 4,6 x 150 mm ed ID 5 µm e come fase mobile una miscela Acetonitrile/Acqua (25/75, v/v) per la determinazione della M1 e Acetonitrile, metanolo, acqua (15:30:55; v/v/v)

Poiché le aflatossine B1 e G1 non mostrano una fluorescenza naturale, devono essere derivatizzate prima della rilevazione. Ciò può essere fatto per via fotochimica per irraggiamento con luce UV a 254 nm.

### RISULTATI E DISCUSSIONE

Sono stati analizzati numerosi campioni di mangime e campioni di latte e formaggio provenienti dal comprensorio di produzione della Vastedda della Valle Belice. In tutti i campioni analizzati il livello di aflatossine è risultato notevolmente inferiore ai limiti di legge (considerando per i formaggi il rispettivo coefficiente di concentrazione).

### CONCLUSIONI

Prendendo in considerazione, i fattori climatici, dell'area di produzione della Vastedda della valle del Belice, con temperatura media annua di circa 16°C (minima di 9°C e massima di 35°C) e piovosità media annua di 770 mm. (inverno di 302 mm. ed estate di 22 mm.); il sistema di alimentazione degli ovini che è costituito principalmente dal pascolo naturale e/o coltivato, da foraggi freschi, da fieni e paglia ottenuti nella zona di produzione e da eventuale integrazione con granella di cereali, con leguminose e concentrati semplici o complessi ben si spiega i valori di aflatossina evidenziato nei campioni di foraggio, latte e formaggio esaminato.



## TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE LAS PARTES AÉREAS, CORTEZAS Y RAÍCES DE *pimenta racemosa* var. *racemosa* (MYRTACEAE)

Contreras-Moreno Billmary-Z.<sup>1,2</sup>, Rojas-V. Janne<sup>2</sup>, Celis María-T.<sup>1</sup>

1. Laboratorio de Polimeros y Coloides (POLYCOL), Facultad de Ingeniería, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela; billmaryc@ula.ve

2. Laboratorio "C" de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela

### INTRODUCCIÓN

El género *Pimenta*, es considerado uno de los representantes de interés medicinal de la familia Myrtaceae, comprende 21 especies incluyendo sus variedades es propio de América tropical; en Venezuela se encuentra distribuido en ocho estados y está representado por *P. racemosa* (Mill.) J.W. Moore (*P. acris* Kostel), la cual es cultivada como ornamental, usada en medicina popular y conocida comúnmente como: Bay-rum, Malagueta, Pepita de especie y Pimienta. Entre los efectos farmacológicos reportados para diferentes especies de *Pimenta*, destacan: el anti-inflamatorio, anticancerígeno, antimicrobiano y antioxidante. La química de hojas y frutos del género *Pimenta* ha sido ampliamente explorada, lográndose aislar diversos metabolitos secundarios, entre los que resaltan: taninos, compuestos fenólicos, flavonóides y una variedad estructural de componentes volátiles como monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropenos. La *P. racemosa* var. *racemosa*, una de las especies de *Pimenta* encontradas en Venezuela, es un árbol aromático, de origen tropical. A la fecha los estudios realizados para esta especie se han enfocado en la obtención y estudio del aceite esencial de las hojas, sin embargo, no se han reportado estudios fitoquímicos ni farmacológicos de otras partes de este árbol.

### METODOLOGÍA

Se realizó un estudio fitoquímico preliminar a extractos polares de las partes aéreas (hojas, frutos y tallos), corteza y raíces de *P. racemosa* var. *racemosa*, con el objeto de determinar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en los extractos antes mencionados. La *P. racemosa* var. *racemosa* fue colectada en la localidad de Rubio, situada en la parte suroeste del estado de Táchira, a una altitud de 859 m.s.n.m, a principios de abril del año 2012, discriminando sus partes en: hojas, frutos, tallos (finos y gruesos), corteza y raíces. Los vouchers especímenes de la recolección están resguardados en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo el código BC-01. Los extractos se obtuvieron por maceración en alcohol isopropílico del material vegetal previamente secado a 40 °C y molido, los mismos fueron concentrados a presión reducida. El tamizaje fitoquímico se realizó empleando técnicas simples (colorimétricas y cromatografía de capa fina) usando reactivos selectivos.

### RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los grupos de metabolitos secundarios encontrados con mayor frecuencia en las partes estudiadas de *P. racemosa* var. *racemosa* fueron triterpenos, esteroides, saponinas, núcleos fenólicos, glucósidos, taninos, quinonas y posiblemente flavonoides. Los extractos de corteza y raíz resultaron ser los de mayor variedad de estas sustancias, seguido por los extractos de tallos (finos y gruesos) y por último los extractos de frutos y hojas. Se presume que las saponinas detectadas son de naturaleza triterpénicas y esteroidales, porque dieron positivas las pruebas para los metabolitos del tipo esteroidal y triterpenoidal.



## TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE LAS PARTES AÉREAS Y RAÍCES DEL *CROTÓN Ovalifolius* VAHL (EUPHORBIACEA)

Rodríguez-Castillo C.G.<sup>1</sup>, Ramírez-González I.J.<sup>2</sup>, **Contreras-Moreno Billmary-Z.**<sup>2,3\*</sup>, García G.<sup>2</sup>

1. Departamento de Química, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Falcón, República Bolivariana de Venezuela
2. Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, República Bolivariana de Venezuela; billmaryc@ula.ve
3. Laboratorio "C" de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela

### INTRODUCCIÓN

El género *Croton*, el segundo más grande de la familia Euphorbiaceae, comprende alrededor 1300 especies difundidas en las regiones cálidas del planeta, sobre todo en América del Sur y en África; en Venezuela se describen 80 especies. Entre los efectos farmacológicos registrados para diferentes especies de *Croton*, está el anti-inflamatorio, antimalárico, antimicrobiano y citotóxico. La química del género *Croton* ha sido ampliamente explorada y estudios fitoquímicos realizados han conducido principalmente al aislamiento de diversos alcaloides, triterpenoides, flavonoides y una variedad estructural de diterpenos. El *C. ovalifolius*, una de las especies de *Croton* encontradas en Venezuela, es un pequeño arbusto aromático, comúnmente conocido como "amorgosito" o "matejea" nativo de las Antillas, del Sur de México, y del norte de Venezuela y Colombia, siendo muy usado en la medicina tradicional. En Venezuela, el *C. ovalifolius* es encontrado en los estados Lara, Falcón y Mérida y en los alrededores de Caracas. En el estado Falcón las hojas y raíces del *C. ovalifolius* se usan en forma de té para el tratamiento de problemas respiratorios así como también son empleadas por los productores de ganado caprino cuando los animales presentan retención de placenta. A la fecha los estudios realizados para esta especie son pocos, no se han reportado estudios fitoquímicos ni farmacológicos.

### METODOLOGÍA

Con el objeto de determinar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en las partes aéreas y raíces del *C. ovalifolius*, se recolectaron hojas, tallos y raíces del *C. ovalifolius* en la localidad de Charaima, al este de la Península de Paraguana, a mediados de septiembre del año 2011. Información de la identificación taxonómica y espécimen de la recolección está resguardada en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (voucher CR-01). Se realizó un estudio fitoquímico preliminar a extractos de polaridades diferentes de las partes aéreas (hojas y tallos) y raíces del *C. ovalifolius*. Los extractos se obtuvieron por maceración del material vegetal previamente secado en una estufa con recirculación de aire a 40 °C, posteriormente molido y extraído exhaustivamente de forma secuencial usando hexano, diclorometano y metanol. Los extractos fueron concentrados a presión reducida, en la realización del tamizaje fitoquímico se emplearon técnicas simples (colorimétricas y TLC) y selectivas para determinados compuestos.

### RESULTADOS

Los grupos de metabolitos secundarios encontrados con mayor frecuencia en las partes estudiadas de *C. ovalifolius* fueron alcaloides, cumarinas, compuestos terpenoides y esteroides, quinonas y posiblemente saponinas. Los extractos alcohólicos resultaron los de mayor variedad de estas sustancias, sin embargo, los extractos de polaridad intermedia y baja tienen una presencia importante de metabolitos.

### CONCLUSIONES

Se presume que las cumarinas detectadas son, sobre todo, compuestos con polaridad alta - intermedia, porque su presencia resultó identificada en los extractos metanólicos y diclorometánicos, los alcaloides deben ser sustancias principalmente polares, ya que se encontraron especialmente en los extractos metanólicos de hojas, tallos y raíces.





## TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE LAS HOJAS, TALLOS, FRUTOS Y RAÍCES DE *Solanum capsicoides* (SOLANACEAE)

Alarcón Libia<sup>1,2</sup>, Usubillaga Alfredo<sup>2</sup>, Peña Alexis<sup>1</sup>, Pérez Alida<sup>2</sup>, Aparicio Rosa<sup>2</sup>, Rojas Luis<sup>2</sup>, Contreras-Moreno Billmary-Z<sup>3,4</sup>

1. Núcleo Universitario Rafael Rangel, Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela
2. Laboratorio "A" de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela
3. Laboratorio "C" de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela; billmaryc@ula.ve
4. Laboratorio de polimeros y coloides (POLYCOL). Facultad de Ingeniería Universidad de Los Andes Mérida Venezuela

### INTRODUCCIÓN

La familia Solanaceae, pertenece al orden Tubifloreae, el cual se encuentra dentro de la subclase Sympetalae. La familia Solanaceae tiene gran importancia económica, debido a especies productoras de alimentos, especies que producen drogas narcóticas y medicinales y especies ornamentales. El género *Solanum*, es el de mayor representación en la familia, con alrededor de 1900 especies, distribuido en las regiones tropicales y templadas del mundo. En Venezuela, de muy amplia distribución con alrededor de 109 especies. Este género posee gran importancia desde el punto de vista medicinal ya que se le han atribuido propiedades farmacológicas diversas, empleándose en el tratamiento de heridas, cáncer, hongos, en la hipertensión arterial, como analgésico, antiinflamatorio y también la han empleado como insecticidas naturales y mulusquicidas, existen numerosos estudios que avalan científicamente las propiedades etnobotánicas de las especies de este género, estudios fitoquímicos han afirmado la presencia de numerosos metabolitos secundarios entre los cuales destacan: Alcaloides, Saponinas y sapogeninas esteroidales, Flavonas y flavonoides, Antocianidinas, Taninos, Cumarinas, Triterpenos, Carotenoides, Ácidos grasos, Ácido ascórbico entre otros. El *Solanum capsicoides* de Venezuela no presenta estudio fitoquímico; los habitantes de la región llanera lo usan para el tratamiento de úlceras de la piel, y en otras latitudes de América es usada en el tratamiento del reumatismo, aumento de la densidad del semen, y tratamiento de mordedura de serpiente.

### METODOLOGÍA

La especie se recolectó en el sector La Aurorita, en la Parroquia Alto Barinas, carretera cercana a la granja Salesiana. Barinas Estado Barinas-Venezuela, en septiembre de 2011. Los vouchers especímenes de la recolección están resguardados en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, y fueron identificados por la profesora Carmen Benítez de Rojas ("Instituto de Botánica Agrícola", Facultad de Agronomía, Maracay, Estado Aragua, Universidad Central de Venezuela), la cosecha se discrimino en: hojas, frutos verdes, frutos maduros, tallos y raíces, con el objeto de determinar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en las distintas partes del arbusto. Los extractos se obtuvieron empleando la técnica de reflujo en caliente durante 2 horas a una temperatura de 40 °C con una mezcla de solvente MeOH: H<sub>2</sub>O (70:30 respectivamente); para la realización del tamizaje fitoquímico se emplearon técnicas simples colorimétricas, cromatografía de capa fina, usando reactivos selectivos.

### RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los grupos de metabolitos secundarios encontrados en las partes estudiadas de *S. capsicoides* en su mayoría fueron dependientes de la parte de la planta analizada, para el caso de los alcaloides se encontraron en mayor cantidad en frutos verdes, hojas, tallos y raíces, pero ausentes en los frutos maduros, entre tanto los glucósidos se encuentran en mayor proporción en frutos maduros y raíces, las saponinas se encuentran en mayor proporción en las raíces, seguida de lo frutos pero ausente en su totalidad de las hojas, los flavonoles por su parte fueron independiente de la parte de la planta estudiada ya que se encontraban en todas la planta, se presume dado los resultados observados en la reacción con NaOH y la prueba de tricloruro de aluminio que los mismos se encuentren en forma de polifenoles del tipo pirocatecólicos y/o pirogalotánicos.



## QUANTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES IN PLANTS USED IN TRADITIONAL BRAZILIAN MEDICINE

Isanete Geraldini Costa Bieski<sup>1</sup>, Suzamar Soares Corrêa<sup>1</sup>, Poliana Ayres de Oliveira Ramos<sup>1</sup>, Clariana Ferreira da Costa Martins<sup>1</sup>, Fabricio Sanches Lecornec Dias<sup>1</sup>, Igor Leles Lima<sup>1</sup>, Elyane Jayrla C. da Costa<sup>1</sup>, Ivana Maria Povia Violante<sup>2</sup>, Domingos Tabajara de Oliveira Martins<sup>1</sup>

1. Universidade Federal de Mato Grosso, Departamento de Ciências Básicas em Saúde, Faculdade de Medicina, Av. Fernando Correa da Costa, n° 2367, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil; isabieski20@gmail.com

2. Universidade de Cuiabá, Curso de Farmácia, UNIC, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil

### INTRODUCTION

Many ethnopharmacological studies in Brazil have shown that a large number of plant species are used by the local population to treat their diseases. Several techniques can be employed for the detection and quantification of secondary metabolites in plant samples, and spectrophotometry methods are more practical and reproducible than other techniques, allowing the analysis of compounds in the ultraviolet or visible region<sup>1</sup>. Phenolic compounds, which have one or more hydroxyl groups linked to an aromatic ring, stand out from other classes of plant secondary metabolites because they are widely distributed and have various ecological functions that are scientifically proven to have numerous pharmacological activities and are well represented by tannins, flavonoids and coumarins<sup>2</sup>. The purpose of this study was to quantify flavonoids, phenolics and coumarins forty-eight species referenced in ethnopharmacological surveys performed and collected in the Valley Juruena from the Northwest region of Mato Grosso-Brazil.

### METHODOLOGY

The determination of the total phenolic content (TPC) of the extracts was determined by the Folin-Ciocalteu method. TPC were expressed as 1 mg of tannic acid per each gram of sample (mg TAE/g). The calibration equation of tannic acid was  $y = 0.0747x + 0.01471$  ( $R^2 = 0.9874$ ). The determination of total flavonoid content (TFC) of the extracts was estimated by a colorimetric method based on the formation of a flavonoid-aluminum complex. The results were expressed as 1 mg of rutin per each gram of sample (mg RE/g). The rutin calibration equation was  $y = 0.0419x + 0.0044$  ( $R^2 = 0.9977$ ). The determination of coumarins of the extracts was estimated by calibration equation  $y = 0.0935x + 0.0708$  ( $R^2 = 0.9927$ ), and the total coumarin content is expressed as milligrams of coumarin equivalents per gram of the sample extract (mg CE/g). The solution was allowed to stand in the dark for 30 min and the absorbance was measured at 760, 420 and 320 nm for the determinations of total phenols, flavonoids and coumarins, respectively. Three replicated samples were evaluated.

### RESULTS AND DISCUSSION

There was a wide variation between the levels of TPC, TFC and coumarins in the extracts analyzed, with TPC the highest levels in the bark of *Bertholletia excelsa* Bonpl and *Cedrela odorata* L. ( $10.91 \pm 0.39$  and  $8.98 \pm 0.37$  mg/g, respectively), while *Conyza bonariensis* L. and *Scouparia* sp. ( $0.27 \pm 0.02$  and  $0.28 \pm 0.01$  mg/g, respectively). The extracts that showed the highest levels of TFC were the leaves of *Piper umbellatum* L and whole plants of *Philodendron imbe* Schott Kunth ( $5.31 \pm 0.08$  and  $4.42 \pm 0.02$ , respectively), while *Cyperus esculentus* L ( $0.21 \pm 0.001$  mg/g) and *Smilax brasiliensis* Spreng and *Elephantopus mollis* Kunth (both  $0,32 \pm 0.03$  mg/g) contained the lowest levels. The highest levels of coumarins were observed in the leaves of *Arrabidaea chica* (H. B. K.) Verlot and whole plants of *Leonotis nepetifolia* L. (R). Br ( $2.09 \pm 0.01$  and  $1.93 \pm 0.01$  mg/g, respectively).

## CONCLUSIONS

The results show that the species the levels of phenolic compounds may explain, in part, the popular use of these plants identified in the ethnopharmacological surveys conducted in Valley Juruena.

## FINANCIAL SUPPORT

FAPEMAT-MT, CNPq, UFMT

## REFERENCES

1. T.J.S.P. Sobrinho et al., *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5, 2310 (2011).
2. E.L.C. Amorim et al., *Functional Ecosystems Communities* 2, 88 (2008).



## COMPONENTES DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Ruta chalepensis*, *Zanthoxylum fagara* Y *Thymus vulgaris* DEL NORTE DE MÉXICO

Luis Alejandro Pérez López, Yael C. de la Torre, Anabel Torres Cirio, Noemí Waksman de Torres, Ricardo Salazar Aranda

Departamento de Química Analítica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño, s/n. Colonia Mitras Centro, C.P. 64460, Monterrey, NL. lualejandro@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de alternativas para combatir a *Aedes aegypti*, mosquito transmisor del virus del dengue, se ha recurrido al uso de plantas. El virus del dengue representa un problema de salud en el estado de Nuevo León, México. En este estudio se analizaron los aceites esenciales de *Ruta chalepensis*, *Zanthoxylum fagara* y *Thymus vulgaris*, ya que en investigaciones previas se reportó actividad de los mismos contra la larva de este mosquito (C. de la Torre Yael 2009).

### METODOLOGÍA

Los aceites esenciales de las hojas de todas las plantas fueron obtenidos por hidrodestilación. La composición de los aceites se determinó por cromatografía de gases con detector de masas, comparando los índices de retención relativos a una serie de n-alcános (C8 - C20) y por comparación de los espectros de masas con los de la biblioteca NIST y datos de la bibliografía (Adams RP. 2001). El porcentaje de cada compuesto fue obtenido por normalización de áreas de los cromatogramas obtenidos del análisis en el cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los componentes mayoritarios de *Thymus vulgaris* fueron el timol y el O-cimeno con 39.8% y 30.5% respectivamente, en relación al tipo de componentes los mayoritarios fueron los monoterpenos oxigenados con un 55.5%, mientras que los monoterpenos hidrocarbonados representaron un 40.4%. En el caso de *Zanthoxylum fagara* los componentes que estuvieron presentes en mayor proporción fueron el silvestreno y el E-cariofileno con unos porcentajes de área de 25.3% y 23.6% respectivamente, en cuanto al tipo de componentes los de mayor proporción fueron los sesquiterpenos hidrocarbonados con 51.1% seguidos de monoterpenos hidrocarbonados con 37.5%. Los componentes mayoritarios de *Ruta chalepensis* fueron 2-undecanona y 2-nonanona con 43.7% y 35.4%, en este aceite predominaron compuestos tipo cetónicos. Es de particular importancia el aceite esencial de *Ruta chalepensis*, ya que en estudios previos presentó mejor actividad contra larvas de *Aedes aegypti* en comparación con los otros dos aceites estudiados (C. de la Torre Yael. 2009). La composición del aceite de esta planta concuerda, en gran medida, con los resultados obtenidos por otros autores (Conti 2012 y Ntalli 2011); quienes reportan a la 2-nonanona la 2-undecanona como los principales constituyentes, estos compuesto también han sido reportados como principales en otras especies del mismo género (Naguib 2007 y Hadj Fredj 2007). El aceite esencial de *Thymus vulgaris* presente mucha semejanza con otros reportados. Los compuestos encontrados en el aceite de *Zanthoxylum fagara* se han reportado por otros autores, pero en distinta proporción, además de que se describen otros compuestos no detectados en el presente estudio (Prieto 2011). La diferencias en los porcentajes encontradas en la composición de los aceites, puede ser debida a los diferentes lugares de colecta de las plantas.

### BIBLIOGRAFÍA

- C. de la Torre Yael. (2009) Tesis de Maestría. Facultad de Medicina, UANL.  
 Adams RP. (2001) Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA.  
 Barbara Conti y cols. (2013) Parasitol Res 112:991–999  
 Nikoletta G. Ntalli, y cols. (2011) J. Agric. Food Chem., 59, 7098–7103  
 Naguib Y.N. y cols. (2007) Journal of Applied Sciences Research, 3(11): 1534-1543,  
 Mouna Ben Hadj Fredj y cols. (2007) Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.5 (1): 52-55.  
 Juliet A. Prieto, y cols. (2011) Chilean journal of agricultural research 71(1):73-82