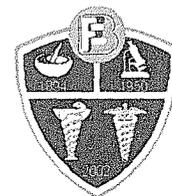




Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Postgrado en Química de Medicamentos



**Estudio fitoquímico y análisis de diferentes
actividades biológicas de las hojas de
Vismia guianensis (Aubl.) Pers.
(Hypericaceae) recolectadas en el Edo.
Portuguesa-Venezuela**

(Tesis Doctoral)

Por: Farm. Richard D Nuñez M

Tutora: Dra. Janne Rojas

Octubre, 2014

www.bdigital.ula.ve

Dedicado a:

José Silvestre Salas

Almeyda Mora

Wuanda Dávila

Janne Rojas

ii

Atribución - No Comercial - Compartir Igual 3.0 Venezuela
(CC BY - NC - SA 3.0 VE)

AGRADECIMIENTOS

A Dios creador del universo y dueño de mi vida que me ha permitido superarme día a día.

A mi familia por estar siempre a mi lado dándome fuerza y aliento.

A mi madrina Almeida Mora, por el apoyo incondicional que me ha brindado en esta aventura y a José Silvestre Salas Mora por permitirme soñar y crecer con su imaginación.

A la Dra. Janne Rojas, más que Tutora es amiga y consejera, ejemplo de dedicación y mística de trabajo, demostrando día a día que la mejor recompensa es la satisfacción del trabajo bien realizado. Gracias profe.

A los profesores del Postgrado en Química de Medicamentos; MSc Nancy Khouri, MSc Gina Meccia, Dra. Irama Ramírez, Dr. Luis Rojas, Dr. Alfredo Usubillaga, Dr. Antonio Morales, Dr. Henry Rodríguez, Dr. Ali Bashas, Dr. Andrés Abad, Dr. Gerardo Medina, MSc Efren Andrade y Lic. Cristina Grassi, por enseñarme que no hay límites, que lo que me proponga lo puedo lograr y que solo depende de mí.

A los profesores; Dra. Miriam Sosa, Dr. Rafael Cimmarrusti, Dr. Pablo Meléndez, Dra. María Eugenia Rondón, Dra. María Eugenia Lucena, Lic. Ana Roa, por el apoyo y colaboración para la realización de esta investigación.

A la Sra. Rosa Félida por mantenerme siempre en sus oraciones dándome fuerza y esperanza en los momentos difíciles y a Janne Estefany por los momentos de alegría compartidos, gracias ahijada.

A mis compañeros de cohorte; Patricia Pérez, Claudia Plaza, Ysbelia Obregón y Julio Rojas, nuestra amistad se ha forjado a través de los años y son esos años los que nos mantendrán unidos. Gracias por todo lo que pasamos juntos y por la gran amistad.

A mis amigos; Rosa Aparicio, Joel Lara, Marietta Vizcaya, Shirley Baldovino, Valentina Cote, Billmary Contreras y Lucero Méndez por su apoyo incondicional en todo momento.

A la Universidad de Los Andes por haberme dado la oportunidad de escalar un peldaño más en el campo del conocimiento. Al postgrado en Química de Medicamentos por haberme provisto de excelentes profesores, quienes me brindaron sus conocimientos y confianza en el transcurso de mi aprendizaje. A la facultad de Farmacia y Bioanálisis por su aceptación y el apoyo recibido durante los largos y fructíferos periodos que he desarrollado en ellos mi labor.

Al fondo Nacional de Ciencia Tecnología e Investigación (Fonacit), por su ayuda económica (Becario), para la realización de este Postgrado, a través del contrato número 200801446.

A todas aquellas personas que de una u otra manera, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.

RESUMEN

De las hojas de *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. (Hypericaceae), se aislaron nueve compuestos entre los cuales se encuentran Sesamina, Friedelina, Vismiaquinona y Lupeol, considerados marcadores taxonómicos, además de, Friedelano, el cual es poco frecuente en la naturaleza y no ha sido reportado previamente para el género *Vismia*. Por otro lado, se aislaron cuatro compuestos que no presentan ninguna relación química con los aislados previamente en el género, sin embargo, la presencia de tres de estos se debió posiblemente a acumulación de residuos de productos sintéticos, tales como, herbicidas y fertilizantes presentes en el suelo. La caracterización de los compuestos aislados y purificados en el presente estudio se realizó por las técnicas de resonancia magnética nuclear RMN¹H (uni y bidimensional) y RMN¹³C, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) y cristalografía. Diferentes actividades biológicas fueron evaluadas en los extractos y compuestos puros aislados de la especie en estudio. La actividad citotóxica en células normales derivadas de riñón de embrión de mono Rhesus demostró que tanto el extracto de las hojas en metanol como las fracciones derivadas de éste no presentaron citotoxicidad. Actividad antibacteriana fue evaluada tanto en los extractos como en compuestos puros observándose que EMDA, EMM y EMDA 11 (Friedelina) mostraron amplio espectro de inhibición en bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *E. faecalis*) con valores de CIM entre 12.5 µg/mL y 10.000 µg/mL y Gram negativas (*E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*) con valores de CIM entre 4 µg/mL y 20.000 µg/mL, mientras que EMDA 30 (Sesamina) solo inhibió el crecimiento de *S. aureus* y *E. faecalis* a la concentración de 400 µg/mL, respectivamente. Por su parte, EMD 90 (Sulfato de amonio) resultó ser activo contra *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* en un rango de concentración entre 4 µg/mL y 12,5 µg/mL. Con respecto a la actividad antifúngica, la misma se ensayó contra cinco cepas de *Candida* y una de *Cryptococcus*, observándose que los extractos EMD y EMA presentaron actividad a una CIM de 20.000 µg/mL mientras que los compuestos EMA 7 (Sulfanilamida) y EMAM 36 (Acetanilida) mostraron inhibición del crecimiento de *C. albicans*, *C. krusei* y *C. parasilopsis* con valores de CIM de 400 µg/mL, respectivamente. En relación a la actividad larvicida, se utilizaron cepas susceptibles de *Aedes aegypti* (L.), no observándose ningún resultado positivo. Finalmente, la actividad antioxidante ensayada usando la técnica de DPPH•, demostró la capacidad secuestrante de radicales libres de los extractos EMAM, EMM y EMA con valores de IC₅₀ entre 0.096 y 3.311, mientras que, EMAM 58 (Vismiaquinona) se destacó de entre los compuestos puros aislados mostrando una elevada actividad antioxidante con un valor de IC₅₀ de 0.153.

ABSTRACT

Sesamin, Friedelin, Vismiaquinone and Lupeol were among the nine compounds isolated from *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. (Hypericaceae) leaves considered taxonomic markers, along with, friedelane, less frequent in nature and has not been reported for *Vismia* genus previously. On the other hand, four compounds with no chemical relationship to the ones previously reported for this genus, were also isolated, however, presence of these three compounds would possible be due to accumulation of synthetic product residues, such as herbicides and fertilizers present in soil. Characterization of isolated and purified compounds in present investigation was carried out by nuclear magnetic resonance ¹H NMR (one and two dimensional), ¹³C NMR, gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and crystallography. Different biological activities were evaluated in extracts and pure isolated compounds from species under investigation. Cytotoxic activity assayed in normal kidney monkey embryo showed that both, leaves methanol extract and fractions eluted from it, did not show any toxic activity. Antibacterial activity was evaluated in extracts as well as in pure compounds revealing that EMDA, EMM and EMDA 11 (Friedelin) have a wide range of activity in Gram positive bacteria (*S. aureus* and *E. faecalis*) with MIC values ranging from 12.5 µg/mL to 10000 µg/mL and Gram negative (*E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*) with MIC values between 4 µg/mL and 20000 µg/mL, whereas EMDA 30 (Sesamin) caused growth inhibition of *S. aureus* and *E. faecalis* at concentration of 400 µg/mL, respectively. Furthermore, EMD 90 (ammonium sulfate) was active against *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* at concentration between 4 µg/mL and 12.5 µg/mL. Regarding antifungal activity, it was evaluated in five *Candida* strains and one *Cryptococcus* strain showing that EMD and EMA extracts demonstrated activity at MIC values of 20000 µg/mL while EMA 7 (Sulfanilamide) and EMAM 36 (Acetanilide) showed growth inhibition of *C. albicans*, *C. krusei* and *C. parasilopsis* with MIC values of 400 µg/mL, respectively. In relation to larvicide activity, *Aedes aegypti* (L.) strains were assayed but none activity was observed. Finally, antioxidant activity evaluated by DPPH• method showed free radicals scavenging capacity on EMAM, EMM and EMA extracts with IC₅₀ values between 0.096 and 3.311 while EMAM 58 (Vismiaquinone) distinguished from the rest of isolated components showing a high antioxidant activity with IC₅₀ of 0.153.

PUBLICACIONES GENERADAS DE LA PRESENTE INVESTIGACIÓN

Revista arbitrada e indexada:

Richard Nuñez, Janne Rojas, María Lucena, Ana Roa y Pablo Melendez. 2013. Evaluación de las actividades, citotóxica y antibacteriana, en extractos de diferentes polaridades obtenidos de la especie *Vismia guianensis* (Aubl) Choisy (Clusiaceae). *Revista de la Facultad de Farmacia*. 55 (2), 29-34

Libro:

Richard Nuñez y Janne Rojas. 2013. Estudios fitoquímicos reportados para diferentes especies de *Vismia*. Familia Clusiaceae (Guttiferae). *Editorial Académica Española*, Saarbrücken, Alemania. ISBN: 978-3-659-07025-9

PARTICIPACIÓN COMO PONENTE EN EL 2^{do} CONGRESO VENEZOLANO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN

Richard Nuñez. “Aportes Científico-Tecnológicos de Investigadores Noveles en la República Bolivariana de Venezuela. *Simposium*”. Caracas del 7 al 10 de noviembre de 2013, con el trabajo titulado: Estudio fitoquímico y análisis de diferentes actividades biológicas del género *Vismia* (Hypericaceae).

María Lucena, Richard Nuñez, Janne Rojas, Ana Roa, Pablo Meléndez. “Evaluación de las actividades citotóxica y antibacteriana en extractos obtenidos de la especie *Vismia guianensis*”. XXII Congreso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina, Silae 2013. Universidad de Costa Rica, Punta de Arenas, Costa Rica. Septiembre 2013

ÍNDICE DE CONTENIDO

1.- INTRODUCCIÓN.....	14
2.- ANTECEDENTES.....	16
2.1.- DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	16
2.1.1.- Familia Hypericaceae.....	16
2.1.2.- Género <i>Vismia</i>	17
2.1.2.1.- Distribución geográfica del género <i>vismia</i>	17
2.1.3.- Características botánicas de la especie <i>Vismia guianensis</i>	21
2.2.- COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	22
2.2.1.- Ruta del ácido mevalónico.....	22
2.2.1.1.- Monoterpenos.....	25
2.2.1.2.- Sesquiterpenos.....	25
2.2.1.3.- Triterpenos.....	27
2.2.2.- Ruta del ácido shikímico.....	30
2.2.2.1.- Flavonoides.....	31
2.2.2.2.- Cumarinas.....	32
2.2.2.3.- Lignanos.....	33
2.2.3.- Ruta de los policétidos.....	35
2.2.3.1.- Xantonas.....	36
2.2.3.2.- Benzofenonas.....	41
2.2.3.3.- Quinonas.....	45
2.2.3.3.1.- Antraquinonas.....	45
2.2.3.3.2.- Antronas.....	49
2.2.3.3.3.- Antranoides prenilados.....	51
2.3.- USOS EN LA MEDICINA TRADICIONAL Y ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LAS ESPECIES DEL GENERO <i>VISMIA</i>	55
3.- HIPOTESIS.....	59
4.- OBJETIVOS.....	59
4.1.- Objetivo General.....	59
4.2.- Objetivos Específicos.....	59

5.-	MATERIALES Y MÉTODOS.....	60
5.1.-	Recolección del material botánico.....	60
5.2.-	Extracción, separación, purificación e identificación del material botánico.....	60
5.2.1.-	Técnicas generales.....	61
5.2.1.1.-	Técnicas cromatográficas.....	61
5.2.1.1.1.-	Cromatografía de columna.....	61
5.2.1.1.2.-	Cromatografía de capa fina.....	61
5.2.1.2.-	Espectroscopia de infrarrojo.....	61
5.2.1.3.-	Espectroscopia de ultravioleta.....	62
5.2.1.4.-	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear.....	62
5.2.1.5.-	Técnica acoplada cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa.....	62
5.2.1.6.-	Determinación de los puntos de fusión.....	62
5.2.1.7.-	Cristalografía.....	62
5.3.-	Separación de los compuestos químicos.....	63
5.3.1.-	Fraccionamiento del extracto metanólico concentrado usando diferentes solventes en polaridad creciente.....	63
5.3.1.1.-	Fracción EMD de las hojas de <i>Vismia guianensis</i>	63
5.3.1.2.-	Fracción EMDA de las hojas de <i>Vismia guianensis</i>	65
5.3.1.3.-	Fracción EMA de las hojas de <i>Vismia guianensis</i>	66
5.3.1.4.-	Fracción EMAM de las hojas de <i>Vismia guianensis</i>	67
5.4.-	Purificación de los compuestos químicos aislados en la columna de cromatografía.....	68
5.5.-	Elucidación de las estructuras moleculares.....	70
5.6.-	Pruebas de actividad biológica.....	70
5.6.1.-	Actividad citotóxica... ..	70
5.6.2.-	Actividad antibacteriana	71
5.6.3.-	Actividad antifúngica	73
5.6.4.-	Actividad larvicida	75
5.6.5.-	Actividad antioxidante.....	76
6.-	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	80
6.1.-	Compuesto EMDA 30 (Sesamina).....	80
6.2.-	Compuesto EMAM 58 (Vismiaquinona).....	85
6.3.-	Compuesto EMDA 11 (Friedelina).....	89
6.4.-	Compuesto EMDA 8 (Friedelano).....	93
6.5.-	Compuesto EMD 82 (Lupeol).....	99

6.6.- Identificación de cuatro compuestos presentes en la especie en estudio que no tienen relación química con el genero <i>Vismia</i>	103
6.7.- Evaluación da la actividad citotóxica de los extractos y compuestos puros.....	117
6.8.- Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos y compuestos puros...	118
6.9.- Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos y compuestos puros.....	122
6.10.-Evaluación da la actividad larvícida de los extractos y compuestos puros.....	123
6.11.-Evaluación da la actividad antioxidante de los extractos y compuestos puros....	124
7.- CONCLUSIONES.....	130
8.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	132

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1.	Especies de <i>Vismia</i> , distribución geográfica y nombres comunes.....	18
Tabla N° 2.	Sesquiterpenos aislados de algunas especies del genero <i>Vismia</i>	26
Tabla N° 3.	Triterpenos aislados de diferentes especies de <i>Vismia</i>	28
Tabla N° 4.	Flavonoides aislados de las especies de <i>Vismia</i>	32
Tabla N° 5.	Cumarinas aisladas del genero <i>Vismia</i>	33
Tabla N° 6.	Lignanos aislados de varias especies de <i>Vismia</i>	34
Tabla N° 7.	Cadensinas aisladas de las especies de <i>Vismia</i>	37
Tabla N° 8.	Xantonas preniladas aisladas de las especies de <i>Vismia</i>	38
Tabla N° 9.	Laurentixantonas aisladas de las especies de <i>Vismia</i>	39
Tabla N°10.	Otras xantonas aisladas de las especies de <i>Vismia</i>	39
Tabla N°11.	Vismiafenonas aisladas del género <i>Vismia</i>	42
Tabla N°12.	Vismiaguianonas aisladas del género <i>Vismia</i>	43
Tabla N°13.	Gutiferonas aisladas del género <i>Vismia</i>	43
Tabla N°14.	Laurentiquinonas aisladas de especies del genero <i>Vismia</i>	47
Tabla N°15.	Vismiaquinonas aisladas de especies del genero <i>Vismia</i>	48
Tabla N°16.	Otros compuestos aislados de especies del genero <i>Vismia</i>	48
Tabla N°17.	Antronas aisladas de varias especies del genero <i>Vismia</i>	50
Tabla N°18.	Antranoides prenilados aislados del genero <i>Vismia</i>	51
Tabla N°19.	Usos tradicionales y actividades biológicas reportadas para el género <i>Vismia</i>	56
Tabla N°20.	Fracciones eluídas durante la separación cromatográfica de EMD.....	64
Tabla N°21.	Unión de las fracciones obtenidas de la columna I de EMD.....	64
Tabla N°22.	Fracciones eluídas durante la separación cromatográfica del EMDA.....	65
Tabla N°23.	Fracciones obtenidas de la columna II del EMDA.....	65
Tabla N°24.	Fracciones eluídas durante la separación cromatográfica del EMA.....	66
Tabla N°25.	Fracciones obtenidas de la columna III del EMA.....	66
Tabla N°26.	Fracciones eluídas durante la separación cromatográfica del EMAM.....	67
Tabla N°27.	Fracciones obtenidas de la columna IV del EMAM.....	67
Tabla N°28.	Fracciones obtenidas a partir de la purificación de los compuestos.....	68

Tabla N°29.	Desplazamientos químicos de Sesamina RMN ¹ H y RMN ¹³ C.....	85
Tabla N°30.	Desplazamientos químicos de la Vismiaquinona, RMN ¹ H y RMN ¹³ C.....	89
Tabla N°31.	Desplazamientos químicos de la Friedelina RMN ¹ H y RMN ¹³ C.....	93
Tabla N°32.	Desplazamientos químicos del Friedelano RMN ¹ H y RMN ¹³ C.....	99
Tabla N°33.	Desplazamientos químicos del Lupeol, RMN ¹ H y RMN ¹³ C.....	103
Tabla N°34.	Datos del difractograma del Sulfato de Amonio.....	116
Tabla N°35.	Resultado de la susceptibilidad antibacteriana de los extractos y compuestos aislados de <i>Vismia guianensis</i>	121
Tabla N°36.	Concentración mínima inhibitoria de los extractos y compuestos puros provenientes de <i>Vismia guianensis</i>	121
Tabla N°37.	Resultado de la susceptibilidad antifúngica de los extractos y compuestos aislados de <i>Vismia guianensis</i>	122
Tabla N°38.	Actividad antioxidante y capacidad secuestrante de radicales libre (CSRL) de los extractos y compuestos aislados de <i>Vismia guianensis</i> a 4 mg/mL.....	126
Tabla N°39.	Determinación del porcentaje de reducción media del DPPH• (IC ₅₀), de los extractos y compuestos aislados de <i>Vismia guianensis</i> a diferentes concentraciones.....	127
Tabla N°40.	Datos obtenidos del análisis de la ecuación sobre la recta en la determinación grafica del porcentaje de reducción media del DPPH• (IC ₅₀), de los extractos y compuestos aislados de <i>Vismia guianensis</i>	127

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1.	Características botánicas de la especie <i>Vismia guianensis</i>	22
Figura N° 2.	Ruta del ácido mevalónico.....	23
Figura N° 3.	Condensación del acetil coenzima A, para formar el IPP.....	24
Figura N° 4.	Acoplamiento de unidades de IPP.....	24
Figura N° 5.	Principales esqueletos de los Sesquiterpenos.....	25
Figura N° 6.	Formación de los Triterpenos.....	27
Figura N° 7.	Ruta del ácido shikímico.....	30
Figura N° 8.	Ruta biosintética de los flavonoides.....	31
Figura N° 9.	Principales grupos funcionales de los flavonoides.....	32
Figura N°10.	Formación de las cumarinas.....	33
Figura N°11.	Formación de los lignanos.....	34
Figura N°12.	Ruta de los Policétidos.....	35
Figura N°13.	Formación de las xantonas por la ruta del shikimato-malonato.....	36
Figura N°14.	Formación de los antranoides prenilados, antronas y antraquinonas.....	46
Figura N°15.	Protocolo experimental aplicado para el aislamiento de los compuestos químicos de <i>Vismia guianensis</i>	69
Figura N°16.	Protocolo experimental aplicado para las pruebas de actividad biológica y elucidación de las estructuras moleculares de los compuestos químicos	78
Figura N°17.	Sesamina, espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) (δ=Hz).....	81
Figura N°18.	Sesamina, espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) (δ=ppm).....	82
Figura N°19.	Sesamina, espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz).....	83
Figura N°20.	Sesamina, espectro DEPT 135° (CDCl ₃ , 100 MHz).....	83
Figura N°21.	Sesamina, espectro ¹ H, ¹ H COSY (CDCl ₃).....	84
Figura N°22.	Sesamina, espectro HMQC (CDCl ₃).....	84
Figura N°23.	Vismiaquinona, espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz).....	87
Figura N°24.	Vismiaquinona, espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) (Ampliación)....	87
Figura N°25.	Vismiaquinona, espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz).....	88
Figura N°26.	Vismiaquinona, espectro de DEPT 135° (CDCl ₃ , 100 MHz).....	88
Figura N°27.	Friedelina, espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz).....	91
Figura N°28.	Friedelina, espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz).....	91
Figura N°29.	Friedelina, espectro DEPT 135° y RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz).....	92
Figura N°30.	Friedelano, espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) (Integrales).....	95
Figura N°31.	Friedelano, espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz).....	96
Figura N°32.	Friedelano, espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz).....	96
Figura N°33.	Friedelano, espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) (Ampliación).....	97
Figura N°34.	Friedelano, espectro DEPT 135° (CDCl ₃ , 100 MHz).....	97
Figura N°35.	Friedelano, espectro ¹ H, ¹ H COSY (CDCl ₃).....	98

Figura N°36. Friedelano, espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY (CDCl_3) (Ampliación).....	98
Figura N°37. Lupeol, espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz).....	101
Figura N°38. Lupeol, espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz).....	102
Figura N°39. Lupeol, espectro DEPT 135° (CDCl_3 , 100 MHz).....	102
Figura N°40. Cromatograma del compuesto EMD 31.....	105
Figura N°41. Espectro de masa del compuesto EMD 31.....	105
Figura N°42. Espectro de masa de la base de datos NISH de la Cafeína.....	106
Figura N°43. Espectro de masa de la base de datos Wiley de la Cafeína.....	106
Figura N°44. Cafeína, espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz).....	107
Figura N°45. Cafeína, espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz).....	107
Figura N°46. Cromatograma del compuesto EMA 7.....	108
Figura N°47. Espectro de masa del compuesto EMA 7.....	109
Figura N°48. Espectro de masa de la base de datos NISH de la Sulfanilamida.....	109
Figura N°49. Espectro de masa de la base de datos Wiley de la Sulfanilamida.....	110
Figura N°50. Sulfanilamida, espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz).....	110
Figura N°51. Sulfanilamida, espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz).....	111
Figura N°52. Cromatograma del compuesto EMAM 36.....	112
Figura N°53. Espectro de masa del compuesto EMAM 36.....	112
Figura N°54. Espectro de masa de la base de datos NISH de la Acetanilida.....	113
Figura N°55. Espectro de masa de la base de datos Wiley de la Acetanilida.....	113
Figura N°56. Acetanilida, espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz).....	114
Figura N°57. Acetanilida, espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz).....	114
Figura N°58. Difractograma del sulfato de amonio.....	116
Figura N°59. Citotoxicidad en células MA-104 de los extractos obtenidos con solventes de diferentes polaridades de la especie <i>Vismia guianensis</i>	117
Figura N°60. Citotoxicidad en células MA-104 de las fracciones obtenidas del extracto metanólico de las hojas de la especie <i>Vismia guianensis</i>	118
Figura N°61. Determinación del porcentaje de reducción media del DPPH• (IC_{50}) para EMD, EMDA y EMA.....	128
Figura N°62. Determinación del porcentaje de reducción media del DPPH• (IC_{50}) para EMAM, EMM y el compuesto EMAM 58.....	129

1. INTRODUCCIÓN

Con la creciente importancia y utilización a nivel mundial de la medicina natural tanto para el tratamiento de las enfermedades, como para el mejoramiento de la calidad de vida, se están realizando numerosas investigaciones en productos naturales como posibles fuentes de sustancias con actividades terapéuticas. Es por esto que los países desarrollados invierten grandes cantidades de dinero en la investigación farmacológica de plantas medicinales, obteniendo la materia prima vegetal de los países tropicales generalmente en desarrollo (Valadeau *et al.*, 2009).

En Venezuela, existe una variedad vegetativa muy extensa, incluyendo bosques, arbustos, hierbas y vegetación pionera (líquenes y musgos), cada uno de estos presenta una multitud de variantes dependiendo de factores físicos y bióticos, los cuales pueden dividirse en áreas boscosas; que comprenden selvas siempre verdes, tropófilas, bosques xerófilos, manglares y áreas no boscosas constituidas por páramos, sabanas, dunas y planicies saladas (Álvarez, 2008).

Por otro lado, las plantas producen una diversidad de sustancias, derivadas del metabolismo secundario, algunas responsables de la coloración y aromas de flores y frutos, otras vinculadas con interacciones ecológicas, como es el caso de la atracción de polinizadores. Sin embargo, se ha demostrado que principalmente la mayoría de ellos participan en el mecanismo de defensa de las plantas y el hombre ha aprovechado estos metabolitos como una fuente de sustancias bioactivas. Por su parte, las plantas de la familia Hypericaceae son conocidas como fuentes de este tipo de compuestos, entre los cuales se pueden citar las xantonas, benzofenonas, cumarinas y flavonoides (Álvarez, 2008).

Las especies del género *Vismia*, pertenecientes a la familia Hypericaceae, se presentan como árboles y arbustos de amplia distribución; se encuentran principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de América del Sur y Central, aunque algunas pocas especies también se hallan en África y Asia (Botta *et al.*, 1986). Estas especies han sido empleadas abundantemente a nivel mundial en la medicina tradicional para el tratamiento

de algunas enfermedades; particularmente el látex producido por *V. augusta*, *V. confertiflora*, *V. dealbata*, *V. baccifera ssp. ferruginea* y *V. guianensis*, ha sido usado para el tratamiento de heridas y ulceraciones, hongos, herpes, como purgante y febrífugo, entre otras (Nagem y Oliveira, 1997; Fuller *et al.*, 1999).

La presencia de xantonas en estas especies, es de gran importancia, ya que poseen actividad antidepresiva y antituberculosa. Además de poseer acción antimicrobiana, antiviral y cardiotónica (Hostettmann y Wagner, 1977; Kitanov y Blinova, 1987).

Estudios recientes de *Vismia*, han establecido también el potencial antioxidante de los extractos de *V. ferruginea* y *V. baccifera*. Se cree que esta actividad antioxidante está asociada con las características químicas de los metabolitos encontrados en estas plantas (Álvarez, 2008).

En la continua búsqueda de sustancias con potencial biológico, el presente trabajo describe el estudio fitoquímico y análisis de diferentes actividades biológicas de la especie *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. (Hypericaceae), lo cual constituye un aporte a la línea de investigación de los productos naturales que sigue el grupo “*Biomoléculas Orgánicas*” adscrito al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

2. ANTECEDENTES

2.1.- DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

2.1.1.- Familia Hypericaceae Juss.

Está representada por aproximadamente 10 géneros y 320 especies; son en su mayoría árboles y arbustos, aunque incluye también plantas trepadoras y epifitas, siendo las de biotipo herbáceo las más comunes en las regiones templadas. Su distribución es cosmopolita, aunque centrada en los trópicos. Los principales géneros son *Hypericum* (238 esp.), *Cratoxylum* (6 esp.), *Eliea* (1 esp.), *Harungana* (2 esp.), *Lianthus* (1 esp.), *Psorospermum* (15 esp.), *Santomasia* (1 esp.), *Thornea* (2 esp.), *Triadenum* (5 esp.), *Vismia* (45 esp.) (<http://www.theplantlist>).

Las plantas de esta familia se caracterizan por ser leñosas, raramente herbáceas; hojas opuestas, generalmente sin estipulas; flores actinomorfas, hermafroditas y unisexuales; cáliz y corola con sus elementos ordenados helicoidalmente o verticilados; numerosos estambres frecuentemente unidos en varios haces o libres; gineceo de tres a cinco carpelos y con igual número de cavidades o con una sola; ovario unilocular o plurilocular; fruto capsular, drupáceo o bacciforme. Una característica resaltante de esta familia son las secreciones glandulares formadas en canales o lagunas en el interior de los tallos, hojas o piezas florales (García, 1992).

Desde los años 1600, se tienen referencias de las primeras descripciones de especies del género *Hypericum*, como son: *bacciferum*, *cayennense*, *sessilifolium*, *latifolium*, *guianense*, *petiolatum*, entre otras. A partir de éstas, surgieron numerosas coincidencias con el género *Vismia*, en plantas descritas por diferentes botánicos tanto en América, como en Asia y África. Es por esto que a partir del año 1800, los expertos en el área realizaron cambios de algunas especies del género *Hypericum* al género *Vismia* (Ewan, 1962).

2.1.2.- Género *Vismia* Vand.

El género *Vismia* pertenece a la familia Hypericaceae, tribu Vismieae. Este género comprende cerca de 45 especies propias de América y África tropical. En Venezuela están representadas por aproximadamente 9 especies, ampliamente distribuidas en todo el territorio. Se encuentran como arbustos o árboles pequeños, ramificados, corteza externa de color marrón. Hojas simples, opuestas, punteado pelúcidas, de 7 a 18 cm de largo y de 3 a 10 cm de ancho, de color verde en el haz y marrón castaño en el envés. Flores pequeñas hermafroditas, blancas y aromáticas, con rayas color púrpura sobre los sépalos y pétalos; florece y fructifica durante gran parte del año, principalmente entre diciembre y julio (Aristigueta, 1973). El fruto es una cápsula globosa, verde tornándose marrón al madurar, generalmente presenta los restos de cáliz en la base y los remanentes de los estigmas en la punta. Tienen canales o cavidades secretoras rellenas de aceites esenciales, grasas, antocianinas y resinas. El desprendimiento de cualquier parte de la planta produce el flujo de un exudado de color anaranjado. Frecuentemente es una planta invasora en los sitios deforestados, sirviendo como plantas para evitar la erosión, crecen en lugares perturbados con suelos rojos y arcillosos (González *et al.*, 1980).

2.1.2.1.- Distribución geográfica del género *vismia*

El género *Vismia* (Hypericaceae) se caracteriza por presentar especies leñosas de poca altura, nativa de América tropical y crece en bosques, cimas de las montañas y valles situados a 2000 m.s.n.m (Dias-Filho *et al.*, 1995).

En 1962 Ewan realizó una revisión de las especies del género *Vismia* en Sudamérica desde el punto de vista botánico y clarificó sus sinónimos y variedades (Delle Monache, 1985). Recientemente, la lista de plantas angiospermas fue actualizada con relación a las especies del género *Vismia*, (<http://www.theplantlist.org/browse/A/Hypericaceae/Vismia/>), ejemplos de su distribución geográfica y nombres comunes se muestran en la tabla N° 1.

Tabla 1. Especies de *Vismia*, distribución geográfica y nombres comunes

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	NOMBRES COMUNES
<i>Vismia affinis</i> (Oliv.)	África	Crenate
<i>Vismia macrophylla</i> (Kunth)	Surinam; Guyana Británica; Zulia, Táchira (Venezuela) Bolívar, Santander, Caquetá, Meta (Colombia); Amazonas (Brasil)	Minchu-warei-yek, Onotillo Lacre
<i>Vismia buchtienii</i> (Ewan)	Bolivia; Santa Cruz Meta, Putumayo y Antioquia (Colombia), Loreto (Perú), Amazonas (Brasil) Guyana Francesa y Guyana Británica	Sangrito Lacre, Puntelanza Pichirina blanca Bloodwood
<i>Vismia lateriflora</i> (Ducke)	Río Loretoyacu (Colombia) Cuzco, Loreto (Perú) Amazonas (Brasil)	Pichirina
<i>Vismia latifolia</i> (Aubl.) Choysi	Brasil Surinam Guyana Francesa	No reportado
<i>Vismia camparaguey</i> (Sprague y L.)	Chiapas, Tabasco (México) Honduras, Guatemala	No reportado
<i>Vismia micrantha</i> (A.St.-Hil)	Minas Gerais (Brasil)	No reportado
<i>Vismia brasiliensis</i> (Choysi)	Sao Paulo (Brasil)	Lacre
<i>Vismia parviflora</i> (Champ y Schtdl)	Minas Gerais (Brasil)	No reportado
<i>Vismia minutiflora</i> (Ewan)	Meta (Colombia) Río Azara (Perú)	No reportado
<i>Vismia gracilis</i> (Hieron.)	Bolivia , Ecuador, Perú	Sangre de gallina
<i>Vismia hamanii</i> (S.F.Blake)	Táchira, (Venezuela,)	No reportado
<i>Vismia jefensis</i> (Robson)	Panamá Antioquia Cumuto (Trinidad) Bacolet (Tobago) Amazonas (Brasil)	Sangrito, Rastrojero
<i>Vismia crassa</i> (Rusby)	Bolivia	No reportado
<i>Vismia japurensis</i> (Rchb.f.)	Manaus (Brasil)	Purga de viento
<i>Vismia billbergiana</i> (Beurl)	Panamá	Achiotillo

Tomado y modificado de
<http://www.theplantlist.2013>

Tabla 1. Especies de *Vismia*, distribución geográfica y nombres comunes (Cont.)

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	NOMBRES COMUNES
<i>Vismia cayennensis</i> (Jack) Pers.	Arima (Trinidad), Gran Rivera de Bridge (Tobago) Delta Amacuro, Anzoátegui, Ciudad Bolívar (Venezuela) Guyana Francesa; Surinam; Bolívar, El Valle (Colombia) San Martín (Perú); Amazonas, Pará (Brasil)	Puinave, teen-ká Sangrito Swinani, pina Blanco de lacre Lacre
<i>Vismia laevis</i> (Planch y Triana)	Antioquia, Tolima (Colombia)	Carate, Punta de lanza
<i>Vismia reichardtiana</i> (Ewan)	Pernambuco, Río de Janeiro (Brasil).	Capianga, Lacre
<i>Vismia glabra</i> (Ruiz y Pav.)	Loreto, Huanuco, San Martín (Perú) Amazonas (Brasil) Santa Cruz (Bolivia)	Pichirina
<i>Vismia plicatifolia</i> (Hochr)	Bolivia; San Martín (Perú)	No reportado
<i>Vismia latisepala</i> (Robson)	Zona del canal (Panamá) El Chocó (Colombia)	Sangrito, achiotillo
<i>Vismia guianensis</i> (Aubl.)Pers.	Trinidad; Surinam; Guyana Francesa y Británica; Amazonas, Ciudad Bolívar, Portuguesa, Sucre (Venezuela) Meta, Caquetá Amazonas - Vaupés (Colombia) Amazonas (Brasil)	Uadamá, Punta de lanza Lacre, Lancetollo Motijo, Caparosa
<i>Vismia lauriformis</i> (Lam.) Choysi	Ciudad Bolívar, Anzoátegui, Sucre (Venezuela) Cundinamarca, Meta, Norte de Santander, Tolima (Colombia) Ecuador; Perú; Bolivia.	Lacre Lacre Minchuba
<i>Vismia martiana</i> (Reichard)	Río de Janeiro, Minas Gerais, Ceará, Pará (Brasil)	Capianga
<i>Vismia baccifera</i> (Planch y Triana)	Táchira, Anzoátegui, Carabobo, Dpto. Federal, Mérida, Trujillo (Venezuela)	Lancetillo, Onotillo,
<i>var. dealbata</i>	Antioquia, Caquetá, Magdalena, Norte de Santander, Tolima, Huila (Colombia); Pará (Brasil)	Punta de lanza, Mancha ropa
<i>var. ferruginea</i>	Carabobo, Amazonas, Ciudad Bolívar (Venezuela); Antioquia, Boyacá, Bolívar, Cauca, Chocó, Meta, Cundinamarca (Colombia)	Punta de lanza, Sangrito

Tomado y modificado de
<http://www.theplantlist.2013>

Tabla 1. Especies de *Vismia*, distribución geográfica y nombres comunes (Cont.)

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	NOMBRES COMUNES
<i>Vismia rusbyi</i> (Ewan)	San Martín, Huanuco (Perú) Bolivia	No reportado
<i>Vismia laxiflora</i> (Rchb.f.)	Bolivia, Perú, Ecuador, Panamá	No reportado
<i>Vismia sprucei</i> (Sprague)	Vaupés (Colombia); Ecuador, Loreto (Perú); Amazonas (Brasil)	No reportado
<i>Vismia sessilifolia</i> (Aubl.) Choysi	Amazonas (Venezuela) El Chocó (Colombia)	No reportado
<i>Vismia mandurr</i> (Hieron.)	El Valle, Popayan (Colombia)	No reportado
<i>Vismia lehmannii</i> (Hieron)	Cauca, El Valle, Caquetá (Colombia)	Lacre
<i>Vismia lindeniana</i> (Turcz.)	Monagas,(Venezuela); Río de Janeiro, (Brasil)	Lacre
<i>Vismia minutiflora</i> (Ewan)	Cauca, Meta (Colombia) Perú, Bolivia, Ecuador	No reportado
<i>Vismia magnoliifolia</i> (Cham.y Schtdl.)	Río de Janeiro, Minas Gerais (Brasil)	No reportado
<i>Vismiatomentosa</i> (Ruiz y Pav.)	Perú	No reportado
<i>Vismia guineensis</i> (Choisy)	Oeste de África	karidjakouma
<i>Vismia obtusa</i> (Reichardt)	Brasil, Perú, Ecuador	Pichirin
<i>Vismia pentagyna</i> (Spreng.) Ewan	Brasil	No reportado
<i>Vismia plicatifolia</i> (Hochr.)	San Martin (Perú) Cochabamba (Bolivia)	Siete cueros
<i>Vismia pozuzoensis</i> (Engl.)	Perú	No reportado
<i>Vismia rubescens</i> (Oliv.)	África	Caopia
<i>Vismia sandwithii</i> (Ewan)	Antioquia (Colombia) Guyana	Casposo
<i>Vismia schultesii</i> (Robson)	Puerto Santander (Colombia)	No reportado
<i>Vismia steyermarkii</i> (Robson)	Rio Cuyuni, Bolivar (Venezuela)	No reportado
<i>Vismia subcuneata</i> (Huber)	Beni, (Bolivia) Perú	No reportado
<i>Vismia tenuinervia</i> (Meberg) Robson	Bolivia	No reportado

Tomado y modificado de
<http://www.theplantlist.2013>

2.1.3.- Características botánicas de la especie *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers.

Árbol de pequeño tamaño (4 a 8 m de altura y de 5 a 10 cm de diámetro,). Tronco ramificado a baja altura, corteza externa de color marrón. Ramas terminales cilíndricas. El desprendimiento de cualquier parte de la planta produce el flujo de un exudado anaranjado. Hojas simples opuestas de 7-18 cm de largo y de 3-10 cm de ancho, ovado elípticas, con ápice acuminado, bordes enteros, base redondeada o truncada. Las hojas son verdes en el haz y marrón castaño en el envés. Pecíolo corto, ligeramente acanalado en la parte superior (Schnee, 1960).

Flores blancas y aromáticas, sin rayas púrpuras sobre los sépalos y pétalos, florece y fructifica durante gran parte del año, principalmente de diciembre a julio. El fruto es una cápsula globosa verde, tornándose marrón al madurar, generalmente presenta los restos del cáliz en la base y los remanentes de los estigmas en la punta (figura 1) (Ewan, 1962).

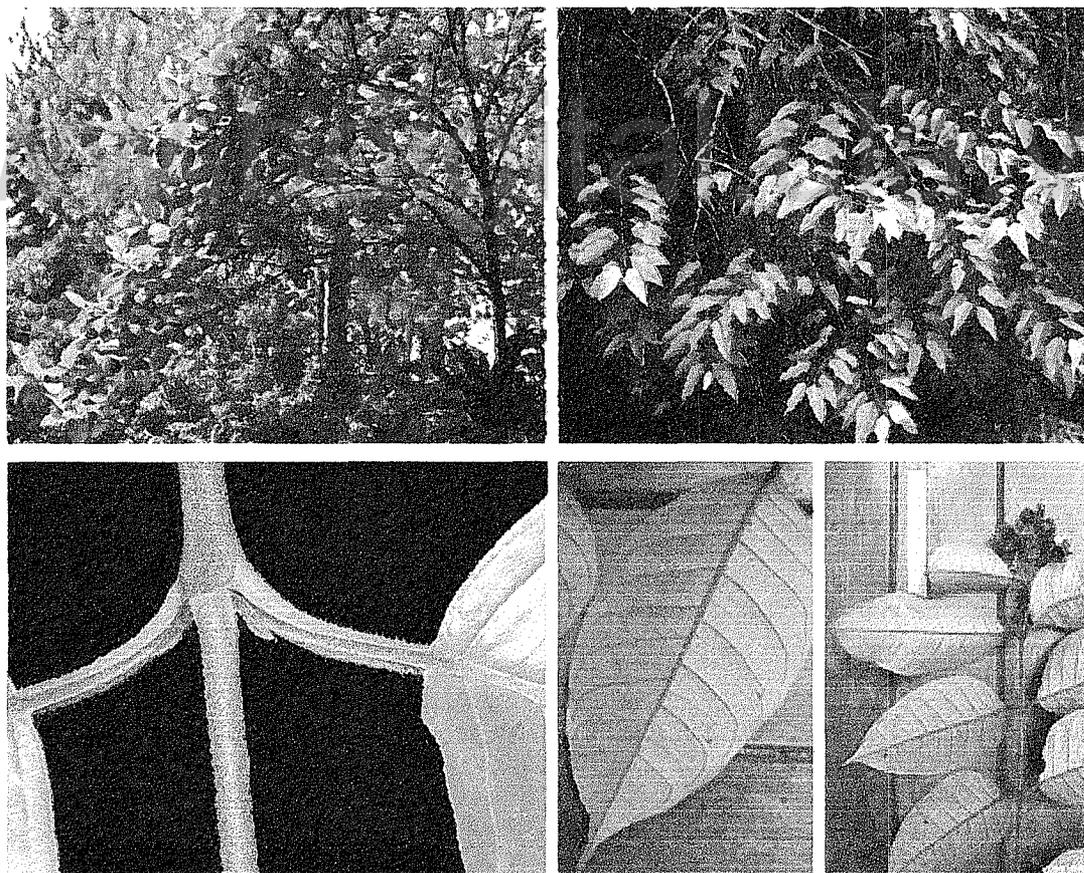


Figura 1. Características botánicas de la especie *Vismia guianensis*

Foto tomada de: galería de imágenes de Alex V. Popovkin ©2011

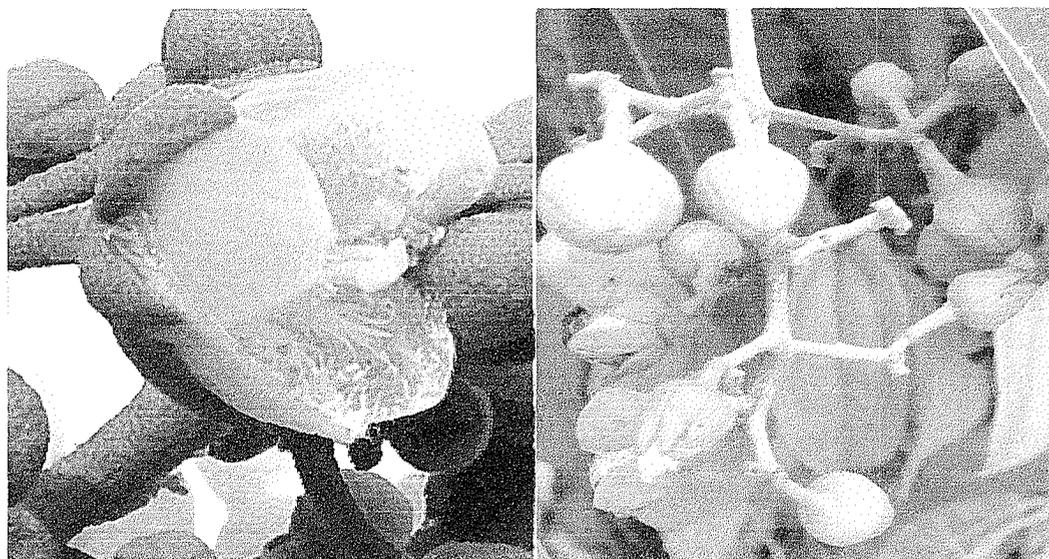


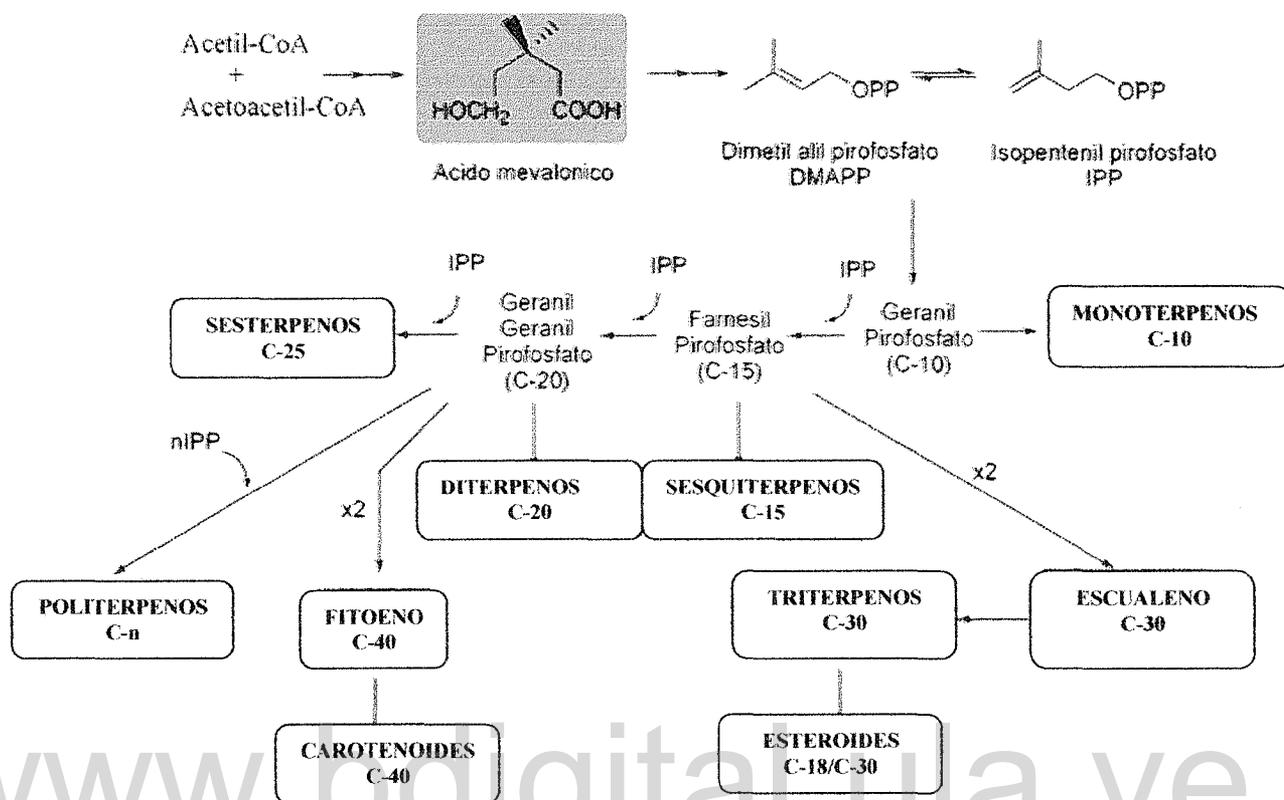
Figura 1. Características botánicas de la especie *Vismia guianensis* (Cont.)
Foto tomada de: galería de imágenes de Alex V. Popovkin ©2011

2.2.- COMPOSICIÓN QUÍMICA REPORTADA DEL GENERO *Vismia*

Estudios previos realizados a diferentes especies del género *Vismia* han reportado una variedad de compuestos los cuales se pueden distinguir y separar por sus rutas metabólicas, las cuales se explican a continuación:

2.2.1.- Ruta del ácido mevalónico: por esta ruta se biosintetizan compuestos de núcleo terpénico; como son los monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, entre otros. En la figura 2, se presenta esquemáticamente la formación de estos compuestos comenzando desde la unión de las moléculas de acetil coenzima A, hasta la formación de estructuras complejas como los triterpenos, carotenoides y esteroides. Es importante aclarar que para el género *Vismia* solo se han reportado hasta el momento sesquiterpenos y triterpenos. Sin embargo, es importante recordar que los terpenos son compuestos orgánicos derivados del isopreno (hidrocarburo de 5 átomos de carbono), provienen del ácido mevalónico y pueden verse como una combinación de numerosas unidades, por lo general unidas de forma cabeza-cola, pero también pueden darse combinaciones cabeza-cabeza. Los terpenoides pueden ser considerados como terpenos modificados donde grupos metilo han sido reacomodados, removidos, o añadido átomos de oxígeno (Bruneton, 1991).

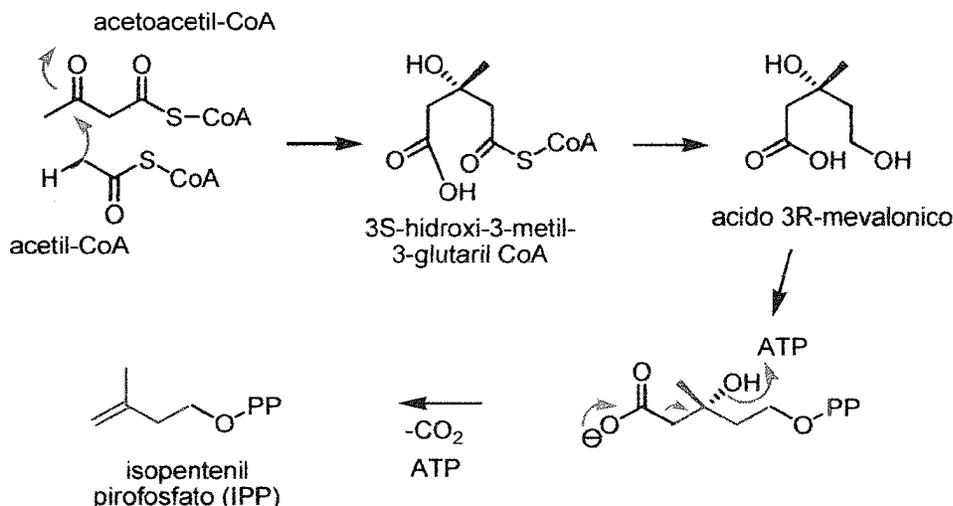
RUTA DEL ÁCIDO MEVALÓNICO



Tomado y modificado de Marcano, D, Hasegawa M. 2002

Figura 2. Ruta del ácido mevalónico

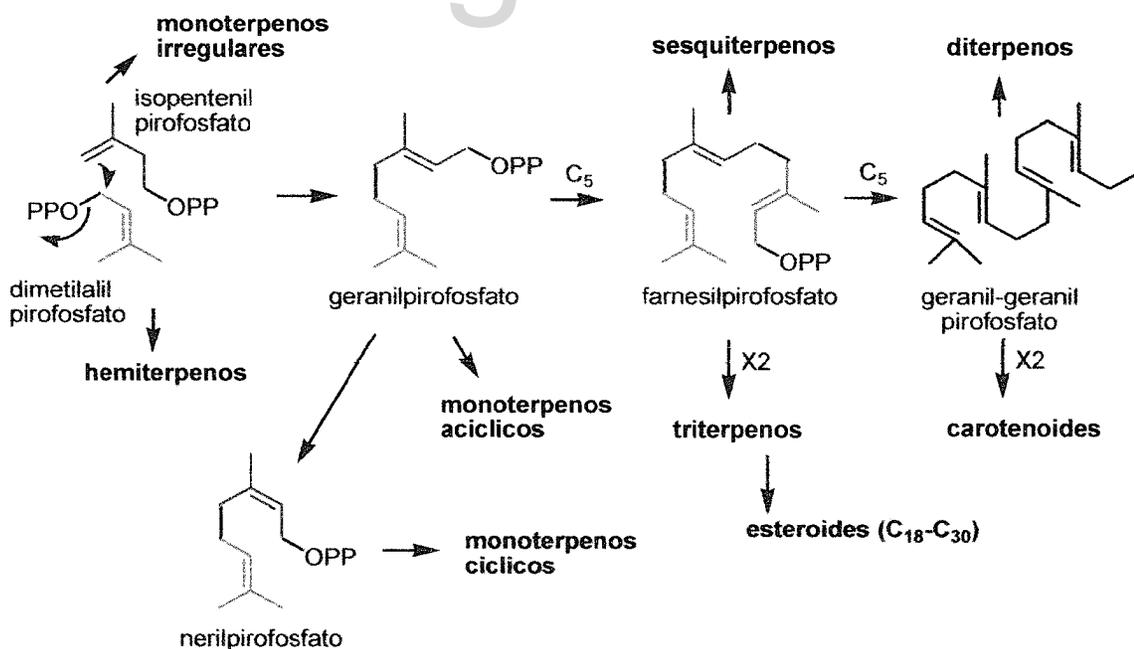
La ruta biogénica se inicia por condensación de dos moléculas de acetil coenzima A (AcCoA), dando acetoacetil-CoA el cual se condensa a su vez con otra molécula de AcCoA originando 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA. Este compuesto se reduce para convertirse en ácido mevalónico (3,5-dihidroxi-3-metilvaleriánico) y posteriormente por fosforilación y descarboxilación, en isopentenilpirofosfato (IPP), el cual, por isomerización da lugar a dimetilalil-pirofosfato (DAMPP), compuesto altamente reactivo (figura 3). La condensación, mediante unión “cabeza-cola” de estos dos últimos compuestos origina el geranil-pirofosfato (GPP) que posee 10 átomos de carbono y es precursor de un gran número de principios activos vegetales (monoterpenos, iridíodes y algunos alcaloides) (Salvat, 2002).



Tomado y modificado de Marcano, D, Hasegawa M. 2002

Figura 3. Condensación del acetil coenzima A, para formar el IPP.

El acoplamiento a este GPP de nuevas unidades de IPP origina moléculas de mayor peso molecular, incrementándose el número de carbonos de cinco en cinco, para formar: sesquiterpenos (C-15), diterpenos (C-20), sesterpenos (C-25), triterpenos (C-30) y tetraterpenos (C-40) (Salvat, 2002), figura 4.



Tomado y modificado de Marcano, D, Hasegawa M. 2002

Figura 4. Acoplamiento de unidades de IPP.

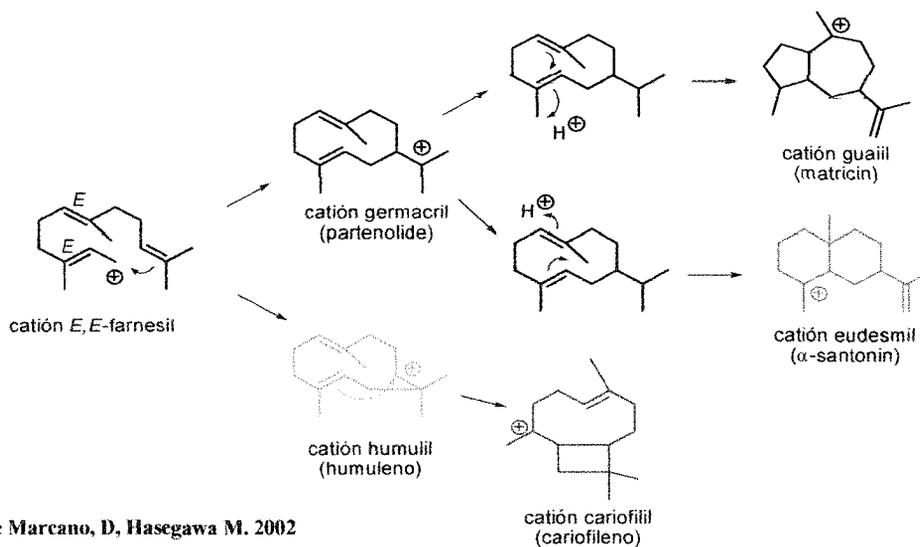
Desde el punto de vista farmacéutico, los grupos de principios activos de naturaleza terpénica más interesantes son: monoterpenos y sesquiterpenos (constituyentes de los aceites esenciales), derivados de monoterpenos correspondientes a los iridooides, lactonas sesquiterpénicas que forman parte de los principios amargos de las plantas, algunos diterpenos que poseen actividades farmacológicas de aplicación en la terapéutica y por último, triterpenos y esteroides entre los que se encuentran las saponinas y los heterósidos cardiotónicos (Dimayuga y Garcia, 1991).

2.2.1.1.- Monoterpenos

Los monoterpenos son compuestos que constan de 2 unidades de isopreno (C-10), mejor conocidos como componentes de las esencias volátiles de las flores y como parte de los aceites esenciales de hierbas y especias, en los que ellos forman parte de hasta el 5 % en peso de la planta seca (Dewick, 1997).

2.2.1.2.- Sesquiterpenos

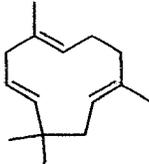
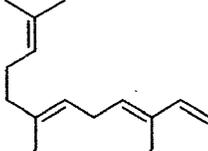
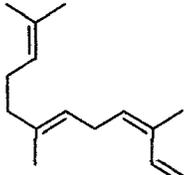
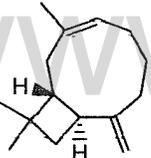
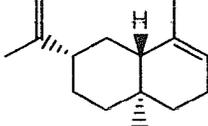
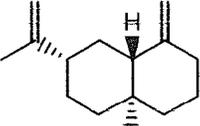
Están formados por 15 átomos de carbono y presentan una gran diversidad de esqueletos (figura 5), como resultado de la facilidad de rearrreglarse que tienen estas estructuras (Dewick, 1997). Dichos compuestos han sido estudiados y se les ha comprobado principalmente actividad antibiótica. A continuación, en la tabla 2, se presentan ejemplos de sesquiterpenos aislados de diferentes especies de *Vismia*.



Tomado y modificado de Marcano, D, Hasegawa M. 2002

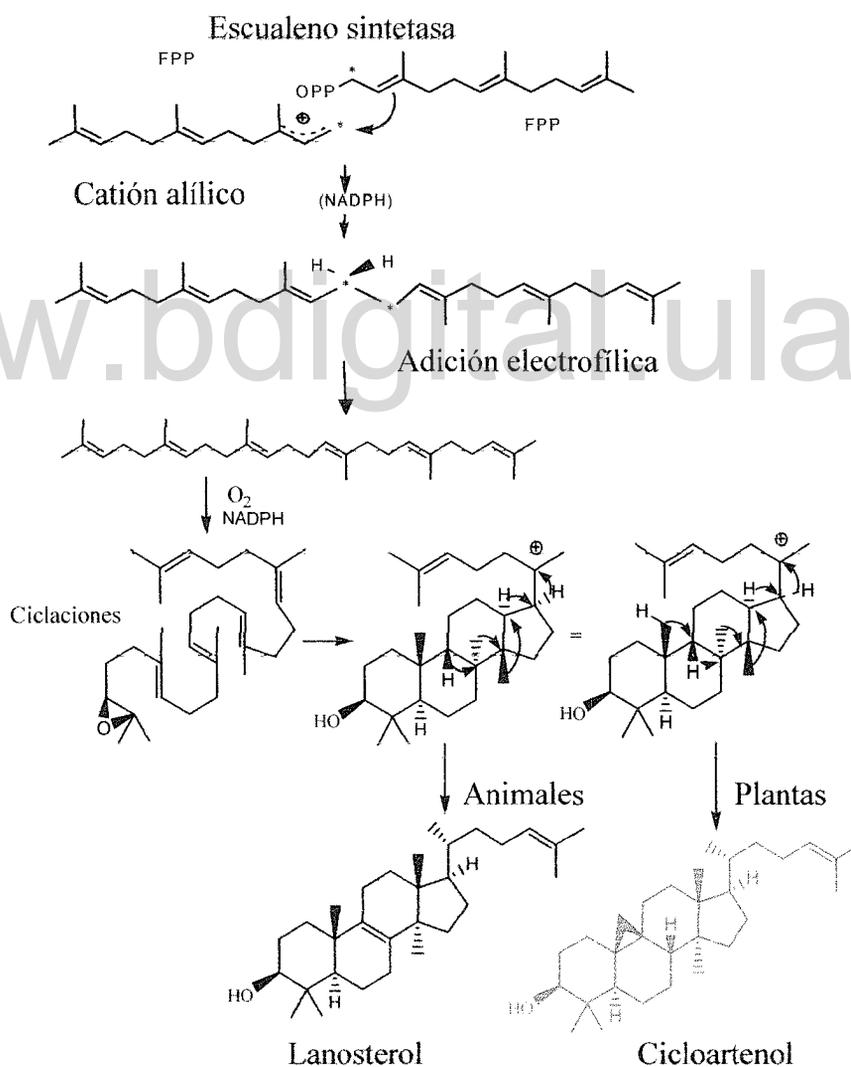
Figura 5. Principales esqueletos de los Sesquiterpenos.

Tabla 2. Sesquiterpenos aislados de algunas especies del género *Vismia*

Estructuras	Plantas	Referencias
 <p data-bbox="245 510 383 541">Humuleno</p>	<i>V. guaramirangae</i>	Camele <i>et al.</i> , 1982
 <p data-bbox="245 730 472 758">trans-α-farneseno</p>	<i>V. cayennensis</i>	Pinheiro <i>et al.</i> , 1984
 <p data-bbox="245 951 448 978">cis-α-farneseno</p>	<i>V. mexicana</i>	
 <p data-bbox="245 1167 407 1199">β-cariofileno</p>	<i>V. ferruginea</i>	Botta <i>et al.</i> , 1983
 <p data-bbox="245 1388 367 1419">α-selineno</p>		
 <p data-bbox="245 1608 367 1640">β-selineno</p>	<i>V. cayennensis</i>	Pinheiro <i>et al.</i> , 1984

2.2.1.3.- Triterpenos

Los triterpenos son compuestos formados por 30 átomos de carbono. En esta clasificación se incluyen los esteroides, esterol, fitoalexinas, algunas toxinas y el ácido oleanólico, el cual está presente en las ceras que cubren la superficie de las plantas. Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza tanto en el reino vegetal como en el animal, siendo el escualeno el precursor común entre ellos (figura 6; Marcano y Hasegawa, 2002). En la tabla 3, se presentan algunos ejemplos de triterpenos aislados de diferentes especies de *Vismia*.



Tomado y modificado de Marcano, D, Hasegawa M. 2002

Figura 6. Formación de los Triterpenos

Tabla 3. Triterpenos aislados de diferentes especies de *Vismia*

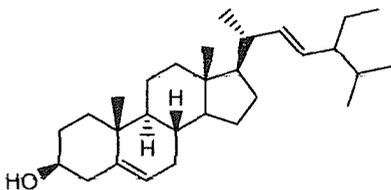
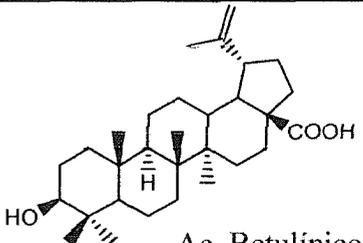
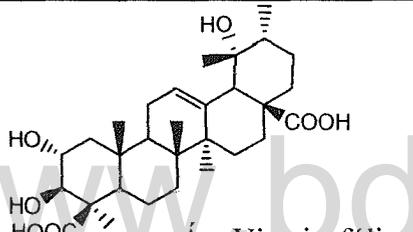
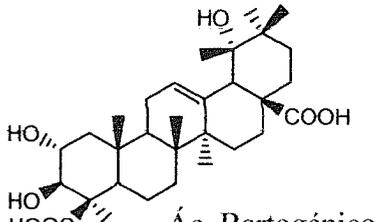
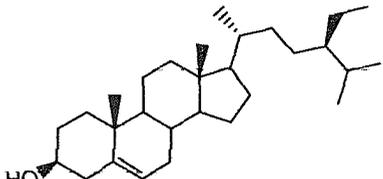
Estructuras	Plantas	Referencias
 <p data-bbox="431 563 612 597">Estigmasterol</p>	<i>V. laurentii</i>	Nguemeving <i>et al.</i> , 2006
 <p data-bbox="447 821 640 853">Ac. Betulínico</p>	<i>V. cayenennensis</i> <i>V. martiana</i>	Miraglia <i>et al.</i> , 1981 Nagen y Faria de Jesús, 1990
 <p data-bbox="455 1081 695 1119">Ác. Vismiaefólico</p>	<i>Vochysia vizmiifolia</i>	Araujo <i>et al.</i> , 1990
 <p data-bbox="455 1332 674 1374">Ác. Bartogénico</p>		
 <p data-bbox="455 1576 579 1606">Sitosterol</p>	<i>V. japurensis</i> <i>V. martiana</i> <i>V. parviflora</i>	Simmonds <i>et al.</i> , 1985 Nagen y Faria de Jesús, 1990 Nagen y Faustino, 1997

Tabla 3. Triterpenos aislados de diferentes especies de *Vismia* (Cont.)

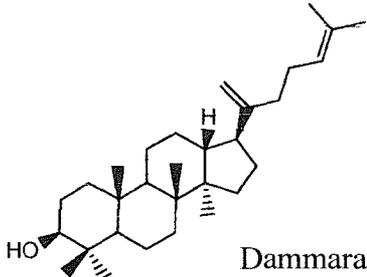
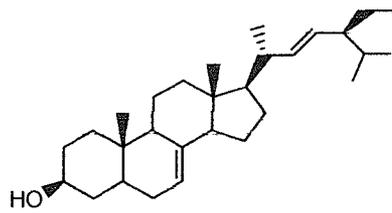
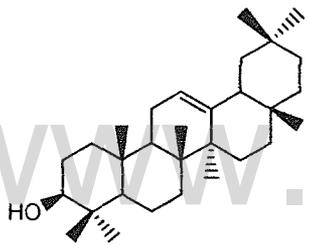
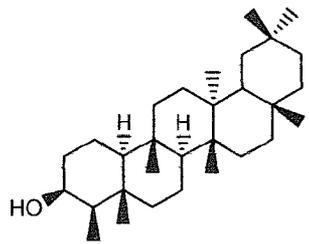
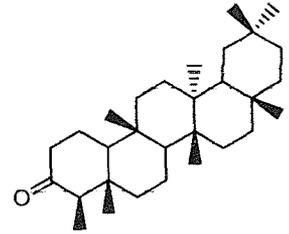
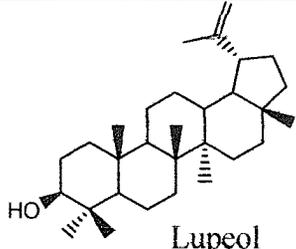
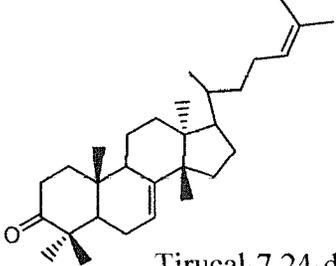
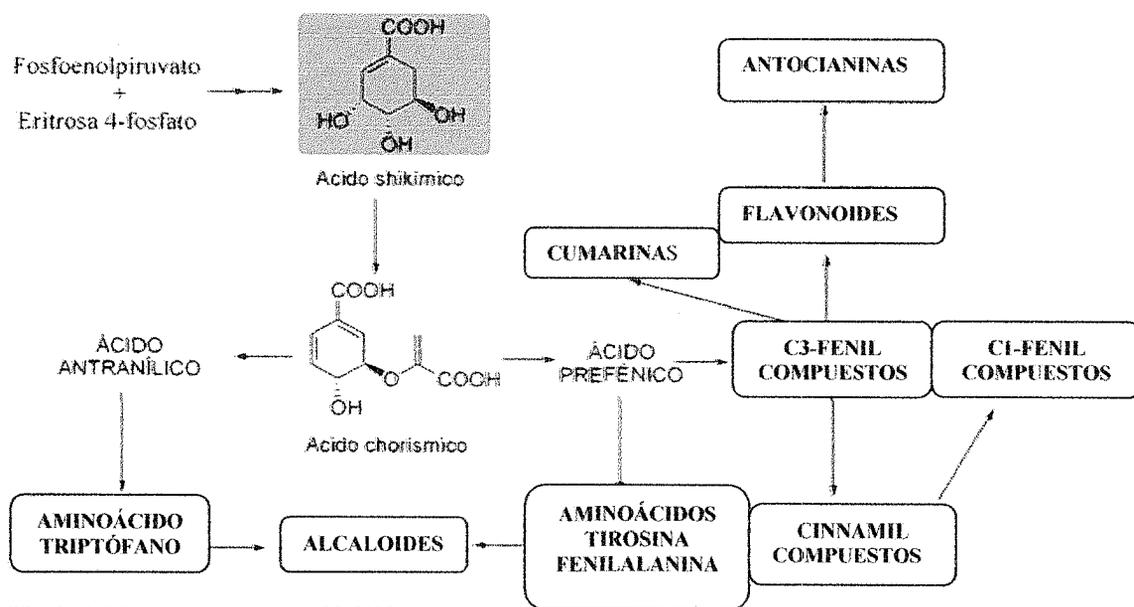
Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Dammaradienol</p>	<i>V. martiana</i>	Nagen y Faria de Jesús, 1990
 <p>Stigmata -7,22-dien-3-ol</p>	<i>V. laurentii</i>	Noungoue <i>et al.</i> , 2008
 <p>β-amirina</p>	<i>V. cayenensis</i>	Miraglia <i>et al.</i> , 1981
 <p>Friedelanol</p>	<i>V. rubescens</i> <i>V. laurentii</i> <i>V. japurensis</i>	Tamokou <i>et al.</i> , 2009 Nguemeving <i>et al.</i> , 2006 Miraglia <i>et al.</i> , 1981
 <p>Friedelina</p>	<i>V. parviflora</i> <i>V. laurentii</i> <i>V. laurentii</i> <i>V. rubescens</i> <i>V. baccifera</i> <i>var. dealbata</i>	Nagen y Faustino, 1997 Kuete <i>et al.</i> , 2007 Nguemeving <i>et al.</i> , 2006 Tamokou <i>et al.</i> , 2009 Salas <i>et al.</i> , 2008

Tabla 3. Triterpenos aislados de diferentes especies de *Vismia* (Cont.)

Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Lupeol</p>	<i>V. parviflora</i>	Nagen y Faustino, 1997
 <p>Tirucal-7,24-dien-3-ona</p>	<i>V. laurentii</i>	Noungoue <i>et al.</i> , 2008

2.2.2.- Ruta del ácido shikímico: por esta ruta se biosintetizan compuestos de núcleo flavonoide, cumarina y lignano. En la figura 7, está representada la formación de estos compuestos comenzando desde la unión del fosfoenolpiruvato y la eritrosa-4-fosfato para formar el ácido shikímico el cual es considerado el compuesto de partida para la obtención de los núcleos antes descritos.

ruta del ácido shikímico



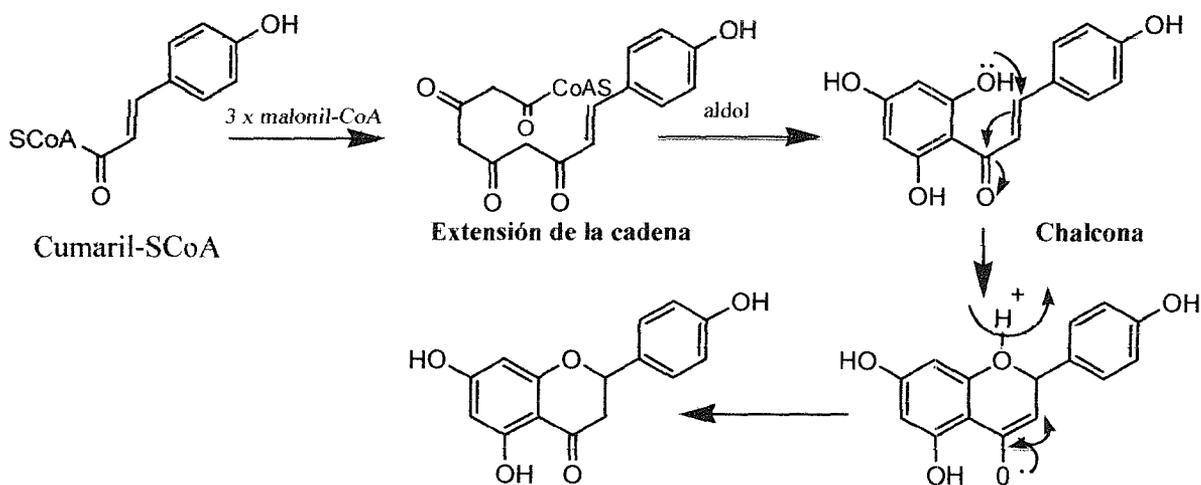
Tomado y modificado de Marciano, D, Hasegawa M. 2002

Figura 7. Ruta del ácido shikímico

2.2.2.1.- Flavonoides

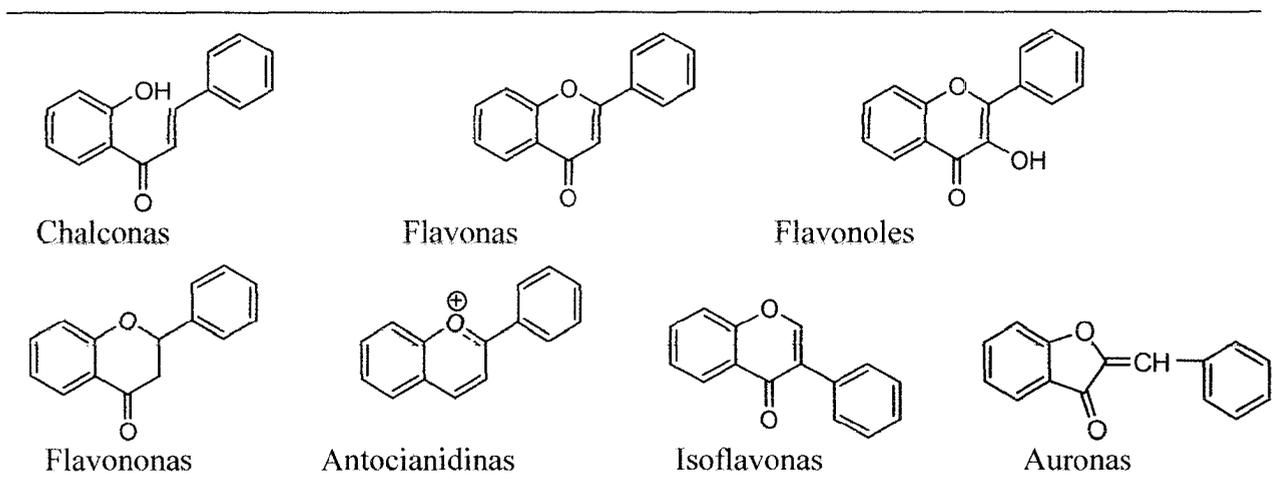
Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "ruta biosintética de los flavonoides". Estos compuestos se encuentran en la mayoría de plantas superiores. Su estructura general comprende un anillo "A" derivado de una cadena policétida; un anillo "B" derivado del ácido shikímico y tres átomos de carbono que unen los anillos A y B (figura 8). Se caracterizan por ser antioxidantes e inhibidores enzimáticos, pero en su mayoría son pigmentos responsables de la coloración de flores y frutos, capaces de atraer y guiar a los polinizadores, favoreciendo así la reproducción de las especies (Bruneton, 1991).

Pueden clasificarse, según las isomerizaciones y los grupos funcionales que les son adicionados, en 7 núcleos principales: chalconas, flavonas, flavonoles, flavanonas, antocianidinas, isoflavonas y auronas (Marcano y Hasegawa, 2002). En la figura 9, se pueden observar los núcleos de los grupos funcionales de los flavonoides. Además en la tabla 4, se muestran ejemplos de flavonoides aislados de las especies de *Vismia*.



Tomado y modificado de Marcano, D, Hasegawa M. 2002

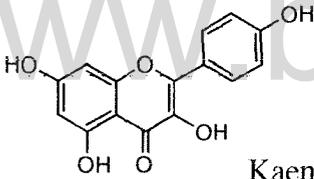
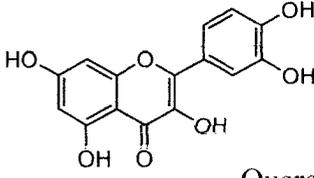
Figura 8. Ruta biosintética de los flavonoides



Tomado de Marcato, D, Hasegawa M. 2002

Figura 9. Principales grupos funcionales de los flavonoides

Tabla 4. Flavonoides aislados de las especies de *Vismia*

Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Kaempferol</p>	<i>V. laurentii</i>	Nguemeving <i>et al.</i> , 2006
 <p>Quercetina</p>	<i>V. parviflora</i>	Nagen y Faustino, 1997

2.2.2.2.- Cumarinas

Son compuestos químicos que poseen un anillo bencénico unido a un solo oxígeno. Son biosintetizados por la vía del ácido shikímico, a partir de la fenilalanina (figura 10). La hidroxilación en posición orto del ácido cinámico a la cadena lateral es un paso crucial en la formación de un grupo de *orto* derivados lactónicos del ácido cinámico (Seo *et al.*, 2000). En la tabla 5 se pueden observar algunos ejemplos de cumarinas aisladas del género *Vismia*.

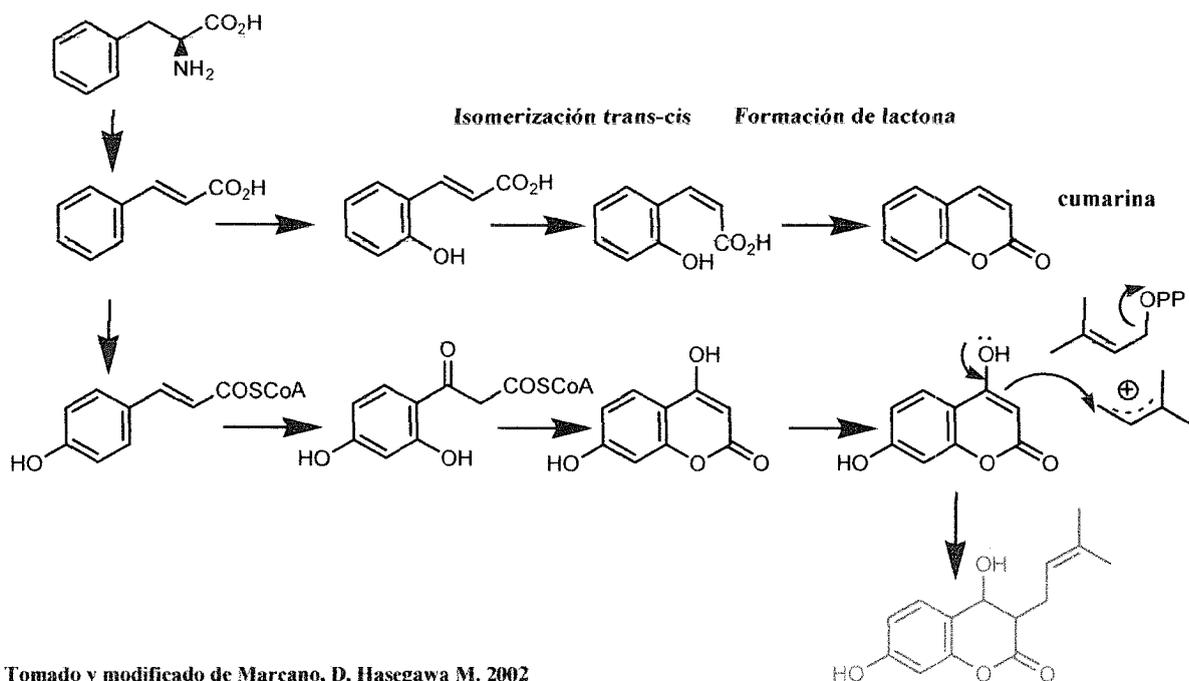


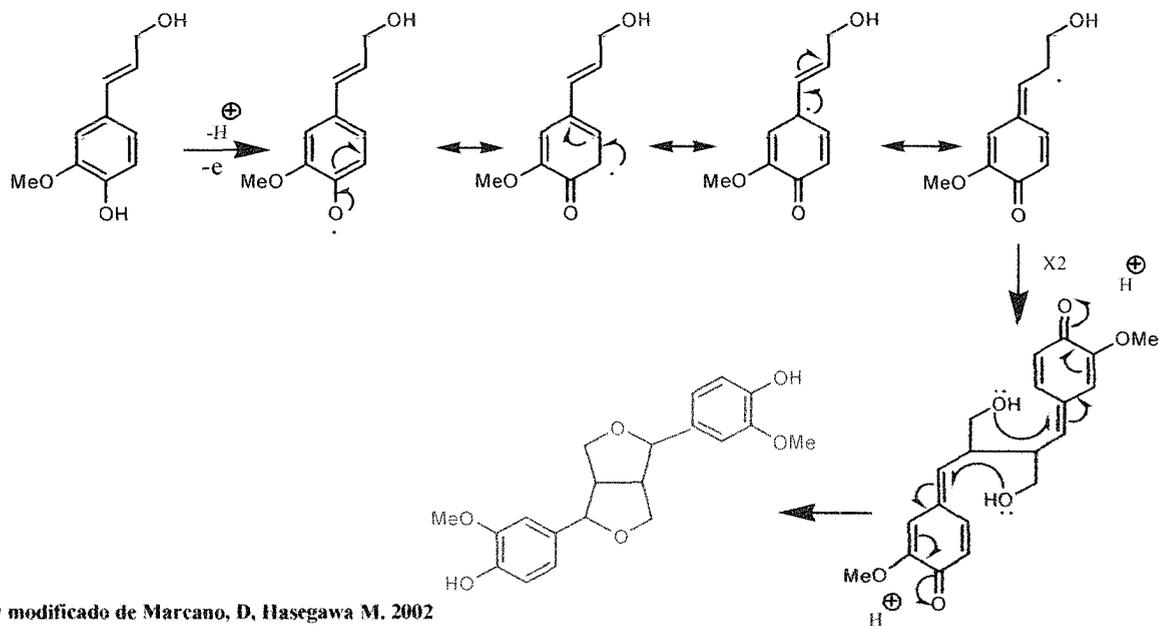
Figura 10. Formación de las cumarinas

Tabla 5. Cumarinas aisladas del genero *Vismia*

Estructuras	Planta	Referencia
	<i>V. guianensis</i>	Seo <i>et al.</i> , 2000

2.2.2.3.- Lignanós

Son sustancias polifenólicas provenientes de la ruta del ácido shikimico; en su mayoría son dímeros que se forman por condensación oxidativa de dos moléculas de alcohol cinamílico ó de ácido cinámico unidas entre sí (figura 11), cuya estructura básica son dos unidades C_6C_3 acopladas por enlaces β, β' (Marciano y Hasegawa, 2002). Ejemplos de algunos lignanos aislados de varias especies de *Vismia* se pueden observar en la tabla 6.



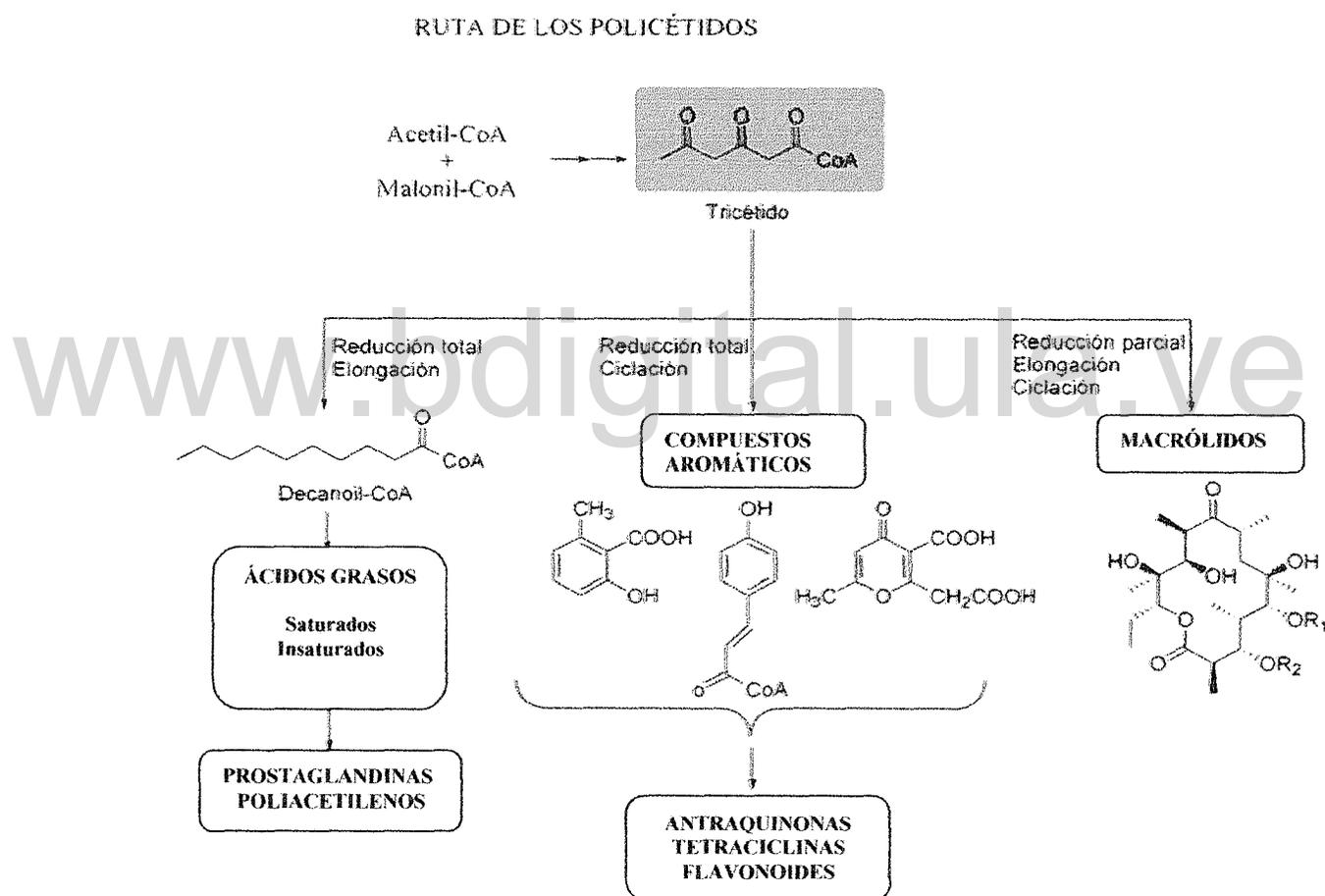
Tomado y modificado de Marcano, D, Hasegawa M. 2002

Figura 11. Formación de los Lignanos

Tabla 6. Lignanos aislados de varias especies de *Vismia*

Estructuras	Plantas	Referencias
<p>Siringaresinol</p>	<i>V. guaramirangae</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1983
<p>Deacetilsiringaresinol</p>		
<p>Sesamina</p>	<i>V. guaramirangae</i> <i>V. baccifera</i> var. <i>Dealbata</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1983 Salas <i>et al.</i> , 2008

2.2.3.- Ruta de los policétidos: entre los principales grupos químicos reportados para el género *Vismia* se encuentran las xantonas, benzofenonas y quinonas. En la figura 12, se muestra la formación de una molécula de tricétido a partir de la unión de un acetil CoA y un malonil CoA, la cual es el punto de partida para la biosíntesis de este tipo de compuestos.

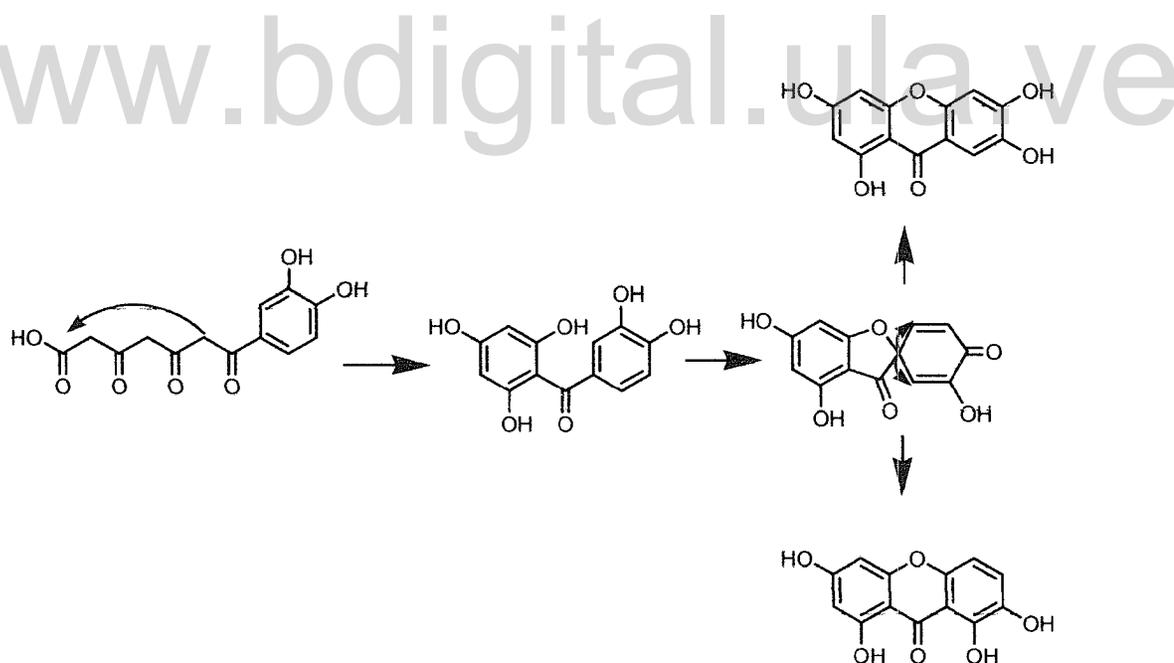


Tomado y modificado de Marcano, D, Hasegawa M. 2002

Figura 12. Ruta de los Policétidos

2.2.3.1.- Xantonas

La estructura de estos compuestos consta de dos anillos bencénicos conectados por un grupo carbonilo y un átomo de oxígeno. Son derivados del núcleo dibenzo- γ -pirona y se aíslan generalmente como cristales amarillos a partir de plantas superiores principalmente de las familias: Hypericaceae, Moraceae, Gentianaceae y Poligalaceae. Existen dos rutas para la biosíntesis de su esqueleto; aquellas producidas por microorganismos que tienen su origen de los policétidos, mientras que las provenientes de plantas superiores se forman a través de la ruta del shikimato-malonato (figura 13). Existen tres subgrupos de xantonas denominadas: Cadensinas (tabla 7), Xantonas preniladas (tabla 8) y Laurentixantonas (tabla 9), las cuales se han aislado en líquenes y en algunas plantas superiores como el género *Vismia*, y un grupo de xantonas extraídas de varias especies de *Vismia* que se caracterizan por presentar diferentes sustituyentes (tabla 10) (Marcano y Hasegawa, 1991; Dimayuga y García *et al.*, 1991).



Tomado y modificado de Marcano, D, Hasegawa M. 2002

Figura 13. Formación de las xantonas por la ruta del shikimato-malonato

Tabla 7. Cadensinas aisladas de las especies de *Vismia*

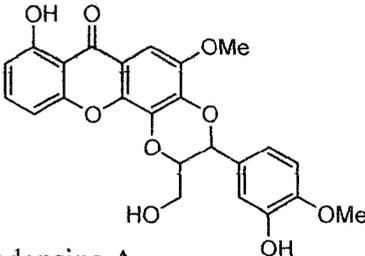
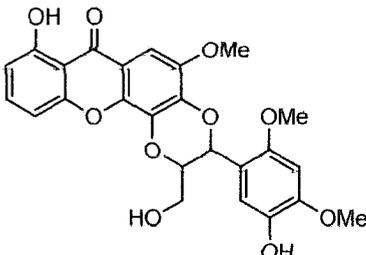
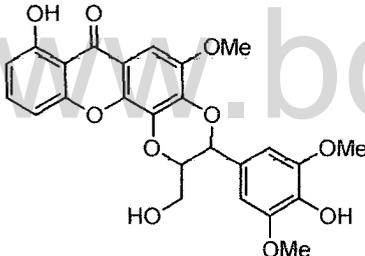
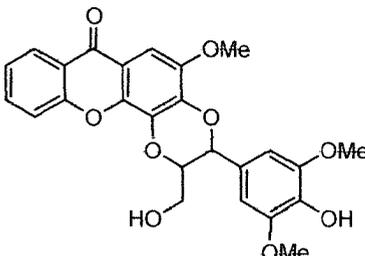
Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Cadensina A</p>		
 <p>Cadensina B</p>	<i>V. guineensis</i>	Peres <i>et al.</i> , 2000
 <p>Cadensina C</p>		
 <p>Cadensina D</p>	<i>V. guaramirangae</i>	Cardona <i>et al.</i> , 1986

Tabla 8. Xantonas preniladas aisladas de las especies de *Vismia*

Estructuras	Planta	Referencia
Xantona Prenilada V ₁		
Xantona Prenilada V _{1a}	<i>V. guineensis</i>	Botta <i>et al.</i> , 1986
Xantona Prenilada V ₂		
Xantona Prenilada V _{2a}		

Tabla 9. Laurentixantonas aisladas de las especies de *Vismia*

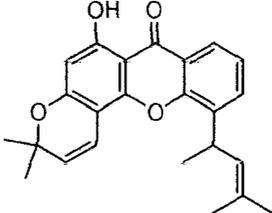
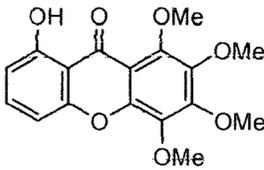
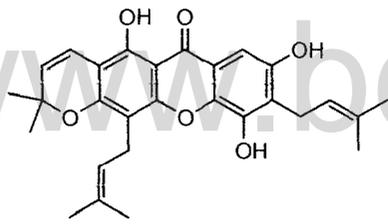
Estructuras	Planta	Referencia
 <p>Laurentixantona A</p>		
 <p>Laurentixantona B</p>	<i>V. laurentii</i>	Nguemeving <i>et al.</i> , 2006
 <p>Laurentixantona C</p>		

Tabla 10. Otras xantonas aisladas de las especies de *Vismia*

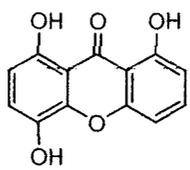
Estructura	Plantas	Referencias
 <p>1,4,8-trihidroxi-xantona</p>	<i>V. latifolia</i> <i>V. rubescens</i>	Dos Santos <i>et al.</i> , 2000 Tamokou <i>et al.</i> , 2009

Tabla 10. Otras xantonas aisladas de las especies de *Vismia* (Cont.)

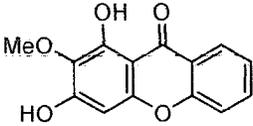
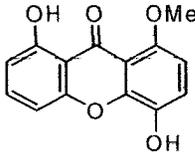
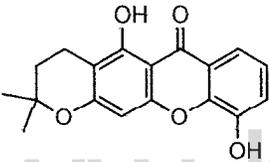
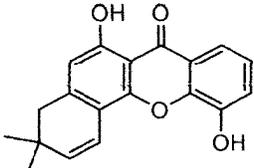
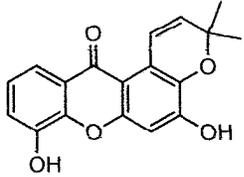
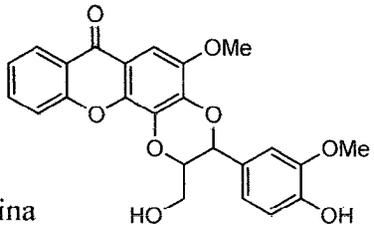
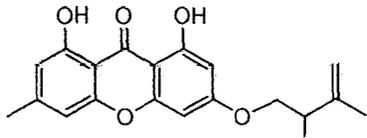
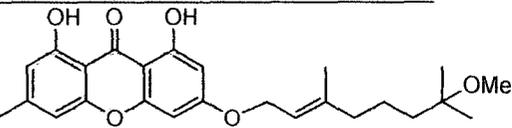
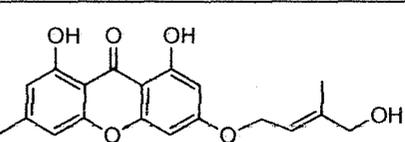
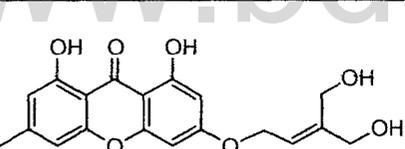
Estructuras	Plantas	Referencias
	<i>V. latifolia</i>	Dos Santos <i>et al.</i> , 2000
		
	<i>V. latifolia</i>	Doriguetto <i>et al.</i> , 2001
	<i>V. laurentii</i>	Nguemeving <i>et al.</i> , 2006
	<i>V. guaramirangae</i>	Cardona <i>et al.</i> , 1986
	<i>V. guaramirangae</i>	Peres y Nagem, 1997

Tabla 10. Otras xantonas aisladas de las especies de *Vismia* (Cont.)

Estructuras	Planta	Referencia
 <p data-bbox="254 517 733 587">1,8-dihidroxi-3-(2-metoxi-3-metilbut-3-eniloxi)-6-metilxantona</p>		
 <p data-bbox="254 721 733 825">1,8-dihidroxi-3-(3,7-dimetil-7-metoxi-oct-2-eniloxi)-6-metilxantona</p>	<i>V. guianensis</i>	Epifano <i>et al.</i> , 2007
 <p data-bbox="254 1012 733 1081">1,8-dihidroxi-3-(E-3 hidroximetil-but-2-eniloxi)-6-metilxantona</p>		
 <p data-bbox="254 1274 733 1336">1,8-dihidroxi-3-(3-hidroximetil-4-hidroxibut-2-bueniloxi)-6-metilxantona</p>		

2.2.3.2.- Benzofenonas

Son cetonas aromáticas con un punto de fusión de 49 °C y de ebullición entre 305-306 °C, pueden ser sintetizadas mediante una acilación de Friedel-Crafts entre el benceno y el cloruro de benzóilo, en presencia de un ácido de Lewis como el AlCl₃. En la naturaleza son precursoras de los compuestos conocidos como xantonas (Sadaquat *et al.*, 2000).

Las benzofenonas aisladas del género *Vismia* se pueden clasificar en: Vismiafenonas (tabla 11), Vismiaguianonas (tabla 12) y Guttiferonas (tabla 13).

Tabla 11. Vismiafenonas aisladas del género *Vismia*

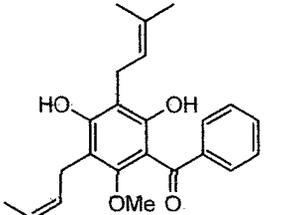
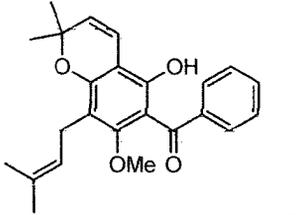
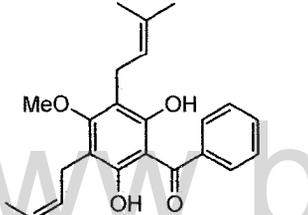
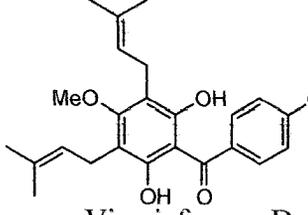
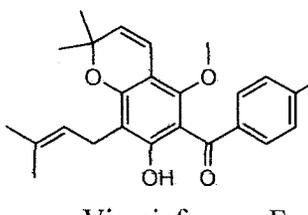
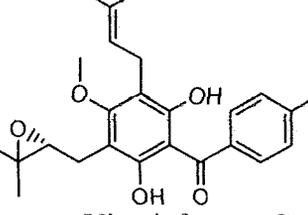
Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Vismiafenona A</p>	<p><i>V. decipiens</i> <i>V. guaramirangae</i></p>	<p>Delle Monache <i>et al.</i>, 1980 Camele <i>et al.</i>, 1982</p>
 <p>Vismiafenona B</p>	<p><i>V. decipiens</i></p>	<p>Delle Monache <i>et al.</i>, 1980</p>
 <p>Vismiafenona C</p>	<p><i>V. guaramirangae</i></p>	<p>Camele <i>et al.</i>, 1982</p>
 <p>Vismiafenona D</p>		
 <p>Vismiafenona F</p>	<p><i>V. cayennensis</i></p>	<p>Fuller <i>et al.</i>, 1999</p>
 <p>Vismiafenona G</p>		

Tabla 12. Vismiaguianonas aisladas del género *Vismia*

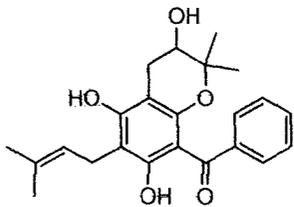
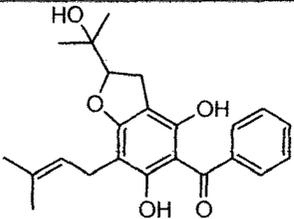
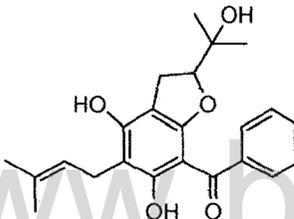
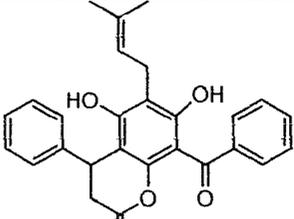
Estructuras	Planta	Referencia
		
Vismiaguianona A		
	<i>V. guianensis</i>	Seo <i>et al.</i> , 2000
Vismiaguianona B		
		
Vismiaguianona C		
		
Vismiaguianona E		

Tabla 13. Gutiferonas aisladas del género *Vismia*

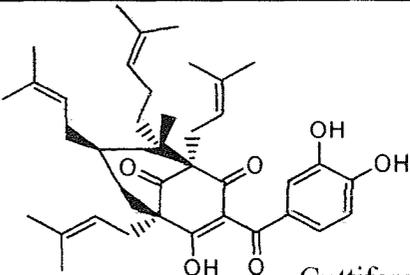
Estructuras	Planta	Referencia
	<i>Vismia spp.</i>	Reyes y Huerta, 2009
Gutiferona A		

Tabla 13. Guttiferonas aisladas del género *Vismia* (Cont.)

Estructuras	Planta	Referencia
Guttiferona B		
	<i>Vismia</i> spp.	Reyes y Huerta, 2009
Guttiferona C		
Guttiferona D		
Guttiferona F		

2.2.3.3.- Quinonas

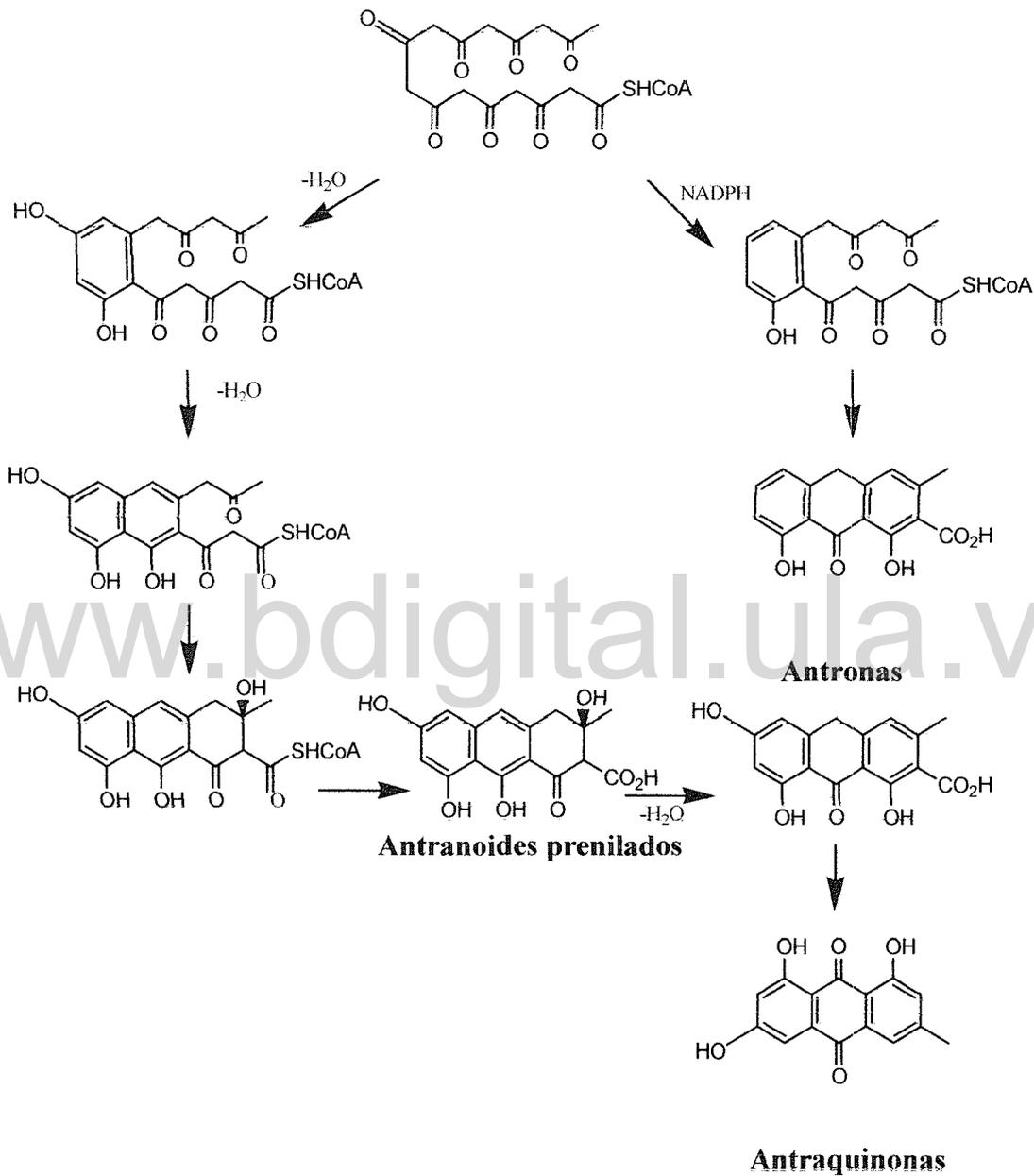
Son compuestos oxigenados que se caracterizan por la presencia de grupos ceto en posición *para*. Se forman por la ruta de los poliacetatos y constituyen un grupo importante de pigmentos aislados tanto de plantas superiores como de hongos, líquenes, animales marinos y ciertos insectos. Por lo general son de color amarillo, rojo o marrón (Bruneton, 1991). De acuerdo a su estructura se les puede clasificar en Antraquinonas, Antronas, Antranoides prenilados, benzoquinonas y naftoquinonas.

2.2.3.3.1.- Antraquinonas

También conocidas con el nombre químico de 9,10-dioxoantraceno; son compuestos orgánicos aromáticos, derivados del antraceno, se localizan principalmente en plantas superiores, pero también pueden encontrarse en insectos y microorganismos. El ácido acético es aceptado como su precursor biogénico casi exclusivo y sus estructuras son generalmente hidroxiladas (Albornoz, 1980). Constituyen el grupo más importante de las quinonas naturales las cuales se caracterizan por su poder laxante, además de ser una fuente significativa de colorantes (García, 1992).

Los poli- β -ceto esterres son estructuras derivadas de la ruta de los policetidos los cuales al sufrir una condensación aldólica generan los antranoides prenilados, antronas y antraquinonas (figura 14).

Entre las antraquinonas aisladas de especies del género *Vismia*, se pueden encontrar: Laurentiquinonas (tabla 14), Vismiaquinonas (tabla 15) y otros compuestos de estructuras relacionadas (tabla 16).



Tomado y modificado de Marciano, D, Hasegawa M. 2002

Figura 14. Formación de los antranoides prenilados, antronas y antraquinonas a partir de los poli- β -ceto ésteres

Tabla 14. Laurentiquinonas aisladas de especies del genero *Vismia*

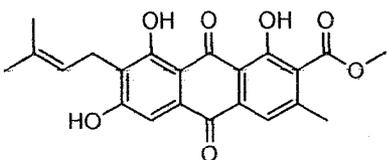
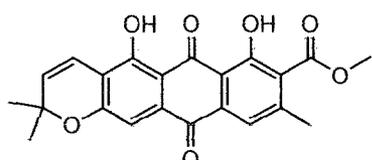
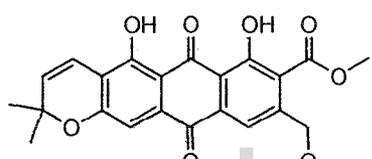
Estructuras	Planta	Referencia
 <p>Laurentiquinona A</p>		
 <p>Laurentiquinona B</p>	<i>V. laurentii</i>	Noungoue <i>et al.</i> , 2008
 <p>Laurentiquinona C</p>		

Tabla 15. Vismiaquinonas aisladas de especies del genero *Vismia*

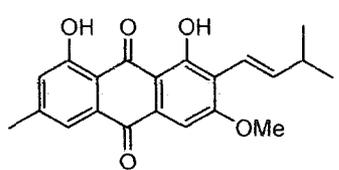
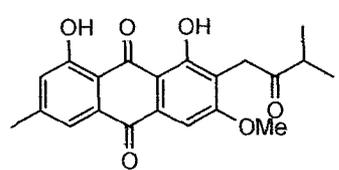
Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Vismiaquinona A</p>	<i>V. martiana</i> <i>V. parviflora</i> <i>V. baccifera</i> <i>V. laurentii</i> <i>V. baccifera</i> var. <i>Dealbata</i>	Nagen y Faria de Jesús, 1990 Nagen y Faustino, 1997 Hussein <i>et al.</i> , 2003 Nguemeving <i>et al.</i> , 2006 Salas <i>et al.</i> , 2008
 <p>Vismiaquinona B</p>	<i>V. japurensis</i> <i>V. martiana</i> <i>V. laurentii</i>	Miraglia <i>et al.</i> , 1981 Nagen y Faria de Jesús, 1990 Nguemeving <i>et al.</i> , 2006

Tabla 15. Vismiaquinonas aisladas de especies del genero *Vismia* (Cont.)

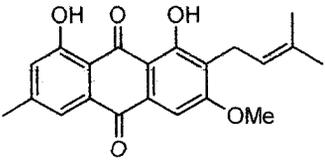
Estructura	Plantas	Referencias
 <p>Vismiaquinona C</p>	<p><i>V. martiana</i></p> <p><i>V. parviflora</i></p>	<p>Nagen y Faria de Jesús, 1990</p> <p>Nagen y Faustino, 1997</p>

Tabla 16. Otros compuestos aislados de especies del genero *Vismia*

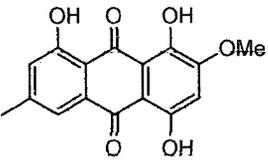
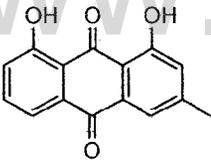
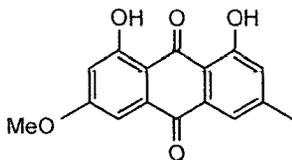
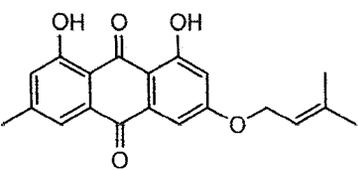
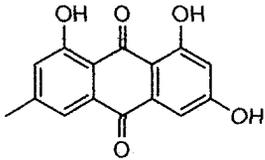
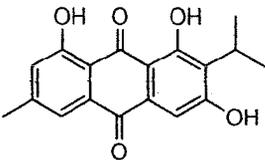
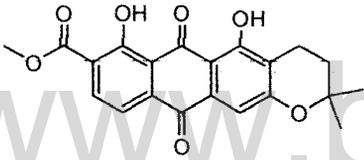
Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Isoxantrorina</p>	<p><i>V. laurentii</i></p>	<p>Noungoue <i>et al.</i>, 2008</p>
 <p>Ácido Crisofánico</p>	<p><i>V. cayeneensis</i></p> <p><i>V. martiana</i></p> <p><i>V. parviflora</i></p>	<p>Pinheiro <i>et al.</i>, 1984</p> <p>Nagen y Faria de Jesús, 1990</p> <p>Nagen y Faustino, 1997</p>
 <p>Fisción</p>	<p><i>V. japurensis</i>, <i>V. mexicana</i></p> <p><i>V. cayennensis</i></p> <p><i>V. rubescens</i></p>	<p>Pinheiro <i>et al.</i>, 1984</p> <p>Nagen y Faria de Jesús, 1990</p> <p>Schultes, 1993</p>
 <p>Madagascina</p>	<p><i>V. guaramirangae</i></p> <p><i>V. martiana</i></p> <p><i>V. parviflora</i></p>	<p>Camele, 1982</p> <p>Nagen y Faria de Jesús, 1990</p> <p>Nagen y Faustino, 1997</p>

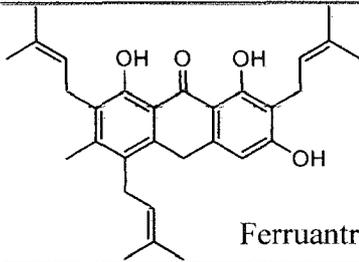
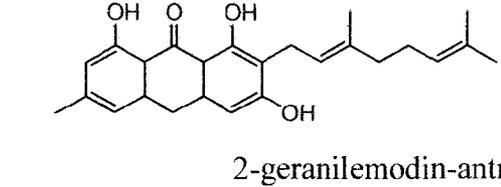
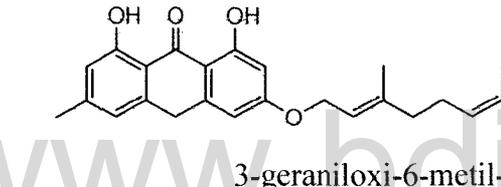
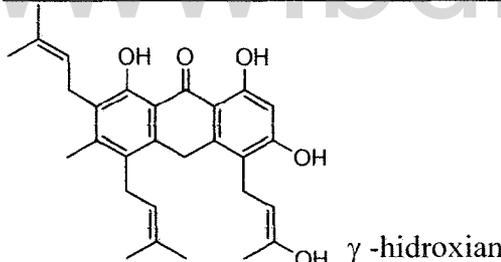
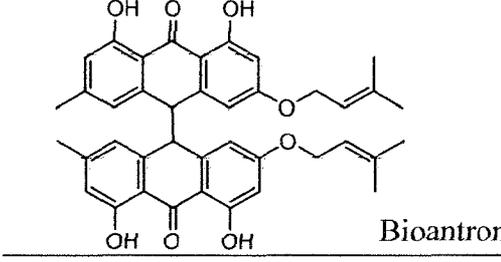
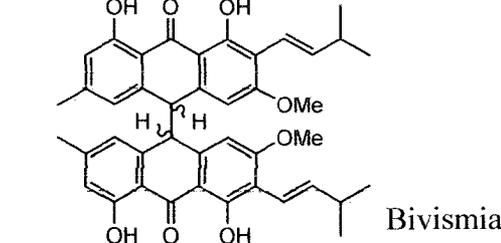
Tabla 16. Otros compuestos aislados de especies del genero *Vismia* (Cont.)

Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Emodina</p>	<i>P. glaberrimum</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1985
 <p>2-Isoprenil-emodina</p>	<i>V. guaramirangae</i> <i>P. febrifugum</i> <i>P. glaberrimum</i>	Camele <i>et al.</i> , 1982 Botta <i>et al.</i> , 1983 Delle Monache <i>et al.</i> , 1985
 <p>Metil-5,7-dihidroxi-2,2,9-trimetil- 6,11 - dihidroxi- 2 -Hantra [2,3-b] piran-8 -carboxilato</p>	<i>V. laurentii</i>	Noungoue <i>et al.</i> , 2008

2.2.3.3.2.- Antronas

Son derivados antraquinónicos reducidos que existen de forma libre y combinada; por lo general son productos amarillos pálidos e insolubles en medios básicos. Las antronas pueden unirse a otra molécula del mismo núcleo por el carbono diez para dar las diantronas, homodiantronas o heterodiantronas (Delle Monache *et al.*, 1980). En la tabla 17 se presentan ejemplos de antronas aisladas de varias especies del genero *Vismia*.

Tabla 17. Antronas aisladas de varias especies del genero *Vismia*.

Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Ferruantrona</p>	<p><i>V. baccifera</i> var. <i>Ferruginea</i> Delle Monache <i>et al.</i>, 1979 <i>V. decipiens</i></p>	
 <p>2-geranilemodin-antrona</p>	<p><i>P. corymbiferum</i></p>	<p>Delle Monache <i>et al.</i>, 1985</p>
 <p>3-geraniloxy-6-metil-1,8-dihidroxi-antrona</p>	<p><i>P. febrifugum</i> <i>V. laurentii</i></p>	<p>Botta <i>et al.</i>, 1983 Nguemeving <i>et al.</i>, 2006</p>
 <p>γ-hidroxiantrona A₃</p>	<p><i>V. guaramirangae</i></p>	<p>Delle Monache <i>et al.</i>, 1983</p>
 <p>Bioantrona A₁</p>	<p><i>V. guianensis</i></p>	<p>Botta <i>et al.</i>, 1986</p>
 <p>Bivismiaquinona</p>	<p><i>V. baccifera</i> <i>V. laurentii</i></p>	<p>Hussein <i>et al.</i>, 2003 Nguemeving <i>et al.</i>, 2006</p>

2.2.3.3.3.- Antranoides prenilados

Son derivados del antraceno que poseen dentro de su núcleo una o varias cadenas preniladas, es decir, cadenas alquílicas que en su estructura pueden contener un grupo isoprenilo. La característica principal de estos compuestos es que poseen un efecto laxante (Dimayuga y Garcia, 1991). Entre los principales antranoides prenilados reportados para el género *Vismia* se encuentran las Vismionas, las cuales son compuestos que tienen actividad citotóxica contra diferentes células tumorales, además de poseer actividad insecticida contra ciertas plagas de cultivo agrícola (Delle Monache, 1985). En la tabla 18 se pueden observar ejemplos de antranoides prenilados (Vismionas, Ferrugininas y otros núcleos relacionados) aislados del género *Vismia*.

Tabla 18. Antranoides prenilados aislados del género *Vismia*.

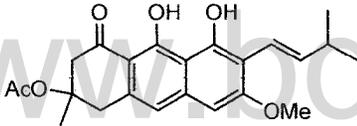
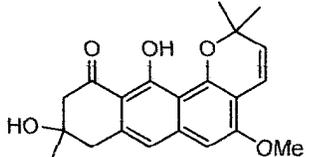
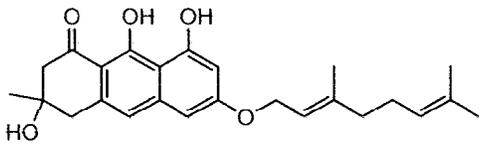
Estructura	Plantas	Referencias
 <p>Vismiona A</p>	<i>V. decipiens</i> <i>V. japurensis</i> <i>V. mexicana</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1980 Miraglia <i>et al.</i> , 1981 Pinheiro <i>et al.</i> , 1984
 <p>Vismiona B</p>	<i>V. decipiens</i> <i>V. mexicana</i> <i>V. baccifera</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1980 Pinheiro <i>et al.</i> , 1984 Hussein <i>et al.</i> , 2003
 <p>Vismiona C</p>	<i>P. febrifugum</i>	Botta <i>et al.</i> , 1983
 <p>Vismiona D</p>		

Tabla 18. Antranoides prenilados aislados del genero *Vismia* (Cont.)

Estructuras	Plantas	Referencias
	<i>P. Glaberrimum</i>	Cassinelli <i>et al.</i> , 1986
Vismiona G		
	<i>V. guianensis</i>	Botta <i>et al.</i> , 1986
Vismiona H		
	<i>Ochna pulcra</i>	Sibanda <i>et al.</i> , 1993
Vismiona M		
	<i>V. decipiens</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1980
Vismina	<i>V. baccifera</i>	Hussein <i>et al.</i> , 2003
	<i>V. decipiens</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1980
Deacetylvismiona A	<i>V. jefensis</i>	Fuller <i>et al.</i> , 1999

Tabla 18. Antranoides prenilados aislados del genero *Vismia* (Cont.)

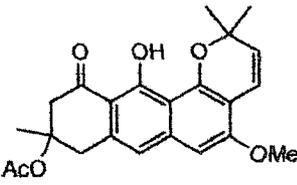
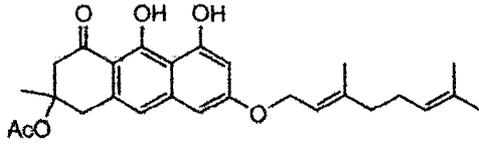
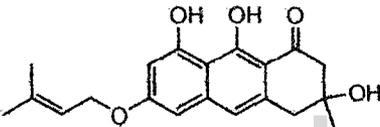
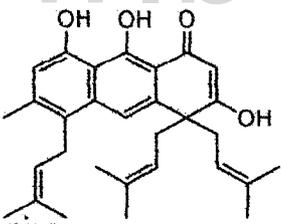
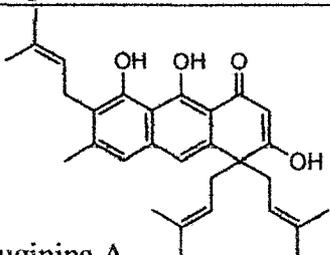
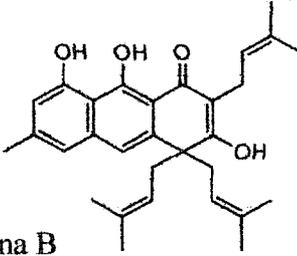
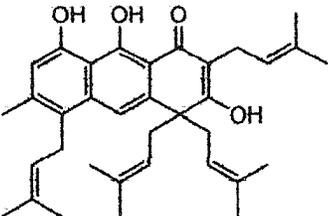
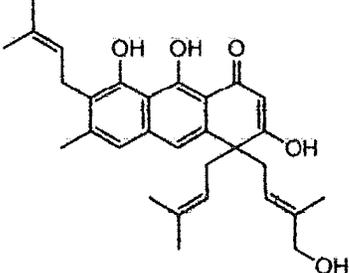
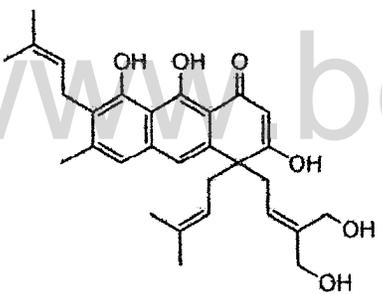
Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Acetilvismiona B</p>	<i>V. japurensis</i>	Pinheiro <i>et al.</i> , 1984
 <p>Acetilvismiona D</p>	<i>P. tendifulum</i>	Cassinelli <i>et al.</i> , 1986
 <p>Deacetilvismiona H</p>	<i>V. jefensis</i>	Hussein <i>et al.</i> , 2003
 <p>Harungana</p>	<i>V. baccifera</i> <i>V. decipiens</i> <i>V. macrophyla</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1979 Delle Monache <i>et al.</i> , 1980 Hussein <i>et al.</i> , 2003
 <p>Ferruginina A</p>	<i>V. decipien</i> <i>V. macrophyla</i> <i>P. febrifugum</i> <i>V. mexicana</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1980 Hussein <i>et al.</i> , 2003 Botta <i>et al.</i> , 1983 Pinheiro <i>et al.</i> , 1984
 <p>Ferruginina B</p>		

Tabla 18. Antranoides prenilados aislados del genero *Vismia* (Cont.)

Estructuras	Plantas	Referencias
 <p>Ferruginina C</p>	<i>V. macrophyla</i>	Hussein <i>et al.</i> , 2003
 <p>γ-hidroxiferruginina A</p>	<i>V. decipiens</i> <i>V. guaramirangae</i>	Camele <i>et al.</i> , 1982
 <p>γ,γ'-dihidroxiferruginina A</p>	<i>V. decipiens</i> <i>V. guaramirangae</i> <i>V. mexicana</i>	Delle Monache <i>et al.</i> , 1980 Delle Monache <i>et al.</i> , 1983 Pinheiro <i>et al.</i> , 1984

2.3.- USOS EN LA MEDICINA TRADICIONAL Y ACTIVIDADES BIOLÓGICAS REPORTADAS PARA LAS ESPECIES DEL GÉNERO *Vismia*

Desde la prehistoria se conocen plantas cuyos extractos han sido usados en pócimas o en curaciones. El conocimiento que se ha tenido es transmitido de padres a hijos, principalmente de manera verbal. Hipócrates conocía el uso de la manzanilla y de la cicuta y son estos los primeros registros escritos, ya que a las plantas le eran atribuidas propiedades curativas de acuerdo a su forma, color ó por su hábitat. El nuevo mundo es particularmente rico en plantas y existe una vasta información sobre los usos de la flora que ha sido recopilada por naturalistas. Con el interés que ha despertado la utilidad de las plantas para el tratamiento de diversas enfermedades, no hay que olvidar la información sobre sus usos populares y tradicionales (Marcano y Hasegawa, 2002).

La plantas medicinales han sido usadas para aliviar las enfermedades comunes que aquejan a los seres humanos, entre estas se encuentran las especies del genero *Vismia*, que han tenido gran importancia en la medicina tradicional para el tratamiento de diferentes afecciones, entre estas se pueden mencionar; heridas, herpes y hongos en la piel (Pasqua *et al.*, 1995). El látex extraído de la especie *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers, es usado en Colombia y Brasil, como purgante, para tratar afecciones del tracto urinario y para el tratamiento de enfermedades superficiales de la piel, mientras la corteza y hojas se usan como antipiréticas y antirreumáticas (Péres, 1978). En la revisión reportada por Vizcaya *et al.*, 2012, se presenta una cronología de los usos tradicionales y ensayos biológicos realizados a los extractos y algunos compuestos químicos aislados del género *Vismia* a partir del año 1962 hasta la presente fecha. A continuación, en la tabla 19, se clasifican por especies, los usos tradicionales y actividades biológicas reportadas para este género.

Tabla 19. Usos tradicionales y actividades biológicas reportadas para el género *Vismia*

ESPECIE	PARTE USADA	USO TRADICIONAL	ACTIVIDAD BIOLÓGICA	REFERENCIAS	
<i>Vismia angusta</i> y <i>Vismia amazónica</i>	Látex	Envejecimiento cutáneo, cicatrizante	Actividad Cicatrizante	Bonte y Meybeck, 1997	
<i>Vismia baccifera</i>	Látex	Tinte y Aceites		Ferrari <i>et al.</i> 1979	
	Látex	Envejecimiento cutáneo, cicatrizante	Actividad Cicatrizante	Bonte y Meybeck, 1997	
	Corteza		Infecciones de la piel, heridas infectadas	Actividad Antibacteriana	Valadeau <i>et al.</i> , 2009
			Leishmaniasis	Actividad Leishmanicida	
	Látex		Actividad Antioxidante	Lizcano <i>et al.</i> , 2010	
	Hojas		Actividad Antioxidante	Lizcano <i>et al.</i> , 2012	
	<i>var. dealbata</i>	Hojas		Actividad Insecticida	Broussalis <i>et al.</i> , 1999
		Hojas		Actividad Antibacteriana	Salas <i>et al.</i> , 2006
		Hojas		Actividad Citotóxica y Analgésica	Salas <i>et al.</i> , 2007
		Hojas		Actividad Citotóxica	Salas <i>et al.</i> , 2008
		Hojas		Actividad Antibacteriana	Rojas <i>et al.</i> , 2010
	<i>var. ferruginea</i>	Frutos		Actividad Antibacteriana	Rojas <i>et al.</i> , 2011
		Frutos	Colorantes naturales en los cosméticos y textil		Jiménez <i>et al.</i> , 2007
Frutos			Actividad Antioxidante	Alvarez <i>et al.</i> , 2008	
<i>Vismia cayennensis</i>	Látex	Enfermedades de la piel (pitiriasis)		Delle Monache <i>et al.</i> , 1984	
	Látex	Aliviar la comezón y tratar las heridas externas		Simmonds <i>et al.</i> , 1985	
	Hojas	Bajar la fiebre	Actividad Larvicida		
	Látex		Actividad Cicatrizante	Bonte y Meybeck, 1997	
	Hojas	Para bañar al bebé antes de dormir		Ruysschaert <i>et al.</i> , 2009	

Tabla 19. Usos tradicionales y actividades biológicas reportadas para el género (Cont.)

ESPECIE	PARTE USADA	USO TRADICIONAL	ACTIVIDAD BIOLÓGICA	REFERENCIAS
<i>Vismia confertiflora</i> , <i>Vismia dealbata</i> , <i>Vismia ferruginia</i> <i>Vismia lindeniana</i>	Látex	Envejecimiento	Actividad Cicatrizante	Bonte y Meybeck, 1997
	Látex	Purgante, Afecciones del tracto urinario. Enfermedades de la piel		Peres, 1978
	Corteza	Antipirético y antirreumático		
	Látex	Teñir lana y para preparar alimentos		Peres y Nagen 1997
	Látex	Envejecimiento cutáneo, cicatrizante	Actividad Cicatrizante	Bonte y Meybeck, 1997
	Látex		Actividad Antineoplásica	Monacelli <i>et al.</i> , 1999
	Látex		Actividad Antimalarica y Citotóxica	Menán <i>et al.</i> , 2006
	Frutos	Colorantes naturales en los cosméticos y textil		Jiménez <i>et al.</i> , 2007
	Hojas	Aliviar dolores en general, mágica religiosa		Alburquerque <i>et al.</i> , 2007
	<i>Vismia guianensis</i>	Látex	Enfermedades infecciosas de transmisión sexual	
Látex			Actividad Citotóxica	Suffredini <i>et al.</i> , 2007
Fruto			Actividad Antioxidante	Álvarez <i>et al.</i> , 2008
Hojas		Preservar la salud del bebé en general		Ruysschaert <i>et al.</i> , 2009
Hojas			Actividad Antimicrobiana	Pereira <i>et al.</i> , 2011
Hojas			Actividad Antimicrobiana	Silvestre <i>et al.</i> , 2012
Fruto			Actividad Antibacteriana y antioxidante	Pereira <i>et al.</i> , 2012

Tabla 19. Usos tradicionales y actividades biológicas reportadas para el género (Cont.)

ESPECIE	PARTE USADA	USO TRADICIONAL	ACTIVIDAD BIOLÓGICA	REFERENCIAS
<i>Vismia guineensis</i>	Hojas	Envejecimiento cutáneo	Actividad Cicatrizante	Bonte y Meybeck, 1997
<i>Vismia latifolia</i>	Látex	Envejecimiento cutáneo	Actividad Cicatrizante	Bonte y Meybeck, 1997
	Hojas		Actividad vasodilatadora	Cámara <i>et al</i> 2010
<i>Vismia laurentii</i>	Hojas		Actividad antifúngica y Antibacteriana	Kuete <i>et al.</i> , 2007
	Hojas		Actividad Antimalarica	Noungoue <i>et al</i> 2009
	Corteza		Actividad Antimicrobiana	Lopez <i>et al.</i> , 2001
<i>Vismia macrophylla</i>	Látex		Actividad Antiviral	Khan <i>et al.</i> , 2005
	Látex	Combatir la sarna		Sanz- Biset <i>et al.</i> , 2009
	Hojas	Dolores estomacales		Ruysschaert <i>et al.</i> , 2009
<i>Vismia orientalis</i>	Frutos		Actividad Antiprotozoaria	Zacaria <i>et al.</i> , 2004
<i>Vismia pozuzoensis</i>	Hojas	Escalofríos	Actividad Leishmanicida	Valadeau <i>et al.</i> , 2009
	Tallos	Dolor de garganta	Actividad Antiviral	Valadeau <i>et al.</i> , 2010
<i>Vismia sandwithii</i>	Frutos	Hepatitis		Sanz- Biset <i>et al.</i> , 2009
	Hojas	Dificultad de comprender		Schultes, 1993
<i>Vismia tomentosa</i>	Hojas	Tratamiento de enfermedades cerebrales		Adams <i>et al.</i> , 2007
	Hojas		Actividad Leishmanicida	Estévez <i>et al.</i> , 2007

3.- HIPOTESIS

Estudios previos realizados al género *Vismia* han reportado la presencia de compuestos con actividad citotóxica, antibacteriana, antifúngica, analgésica, antioxidante entre otras, de manera que, al realizar estudios fitoquímicos en la especie *Vismia guianensis* recolectada en estado Portuguesa-Venezuela, se esperarían encontrar sustancias que muestren actividades relacionadas con las antes descritas o no evidenciadas hasta el momento.

4.- OBJETIVOS

4.1.- Objetivo general

Realizar estudios fitoquímicos y evaluar diferentes actividades biológicas en las hojas de *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. (Hypericaceae) recolectadas en el estado Portuguesa-Venezuela.

4.2.- Objetivos específicos

- 1- Extraer por maceración, usando hexano y metanol, el material botánico seco y molido de *Vismia guianensis* (Aubl) Pers. (Hypericaceae).
- 2- Aislar y purificar los compuestos químicos presentes en las hojas de la especie en estudio.
- 3- Caracterizar los compuestos aislados mediante las técnicas espectroscópicas Infrarrojo (IR), Resonancia Magnética Nuclear (RMN¹H uni, bidimensional y RMN ¹³C), espectroscopia de ultravioleta y Espectrometría de masas (EM).
- 4- Realizar ensayos para descartar citotoxicidad en células normales de los extractos con hexano y metanol.
- 5- Efectuar estudios biodirigidos en aquellos extractos que no muestren actividad citotóxica.
- 6- Evaluar actividades antibacteriana, antifúngica, antioxidante y larvicida tanto en los extractos obtenidos con los solventes orgánicos como en los compuestos puros aislados.

5.- MATERIALES Y MÉTODOS

5.1.- Recolección del material botánico

La especie *Vismia guianensis* (Hypericaceae), fue recolectada en Julio del 2009, en el jardín botánico de la UNELLEZ a 9°2',37" latitud Norte con 68°, 44', 56" longitud Oeste, con una altitud de 183 msnm, ubicado en Guanare Estado Portuguesa. Un espécimen de comprobación de la planta (N° 592) se depositó en el Herbario (MERF). La especie fue identificada por el Profesor Pablo Meléndez de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes.

5.2.- Extracción, separación, purificación e identificación del material botánico

El material botánico recolectado (12826 g) se colocó a 45 °C en una estufa durante ocho días. Una vez seco, se procedió a moler y se determinó su peso (1254 g). El material molido y seco se sometió a una primera extracción por maceración con hexano por ocho días (con la finalidad de eliminar la mayor parte de compuestos grasos presentes) y luego el mismo material se extrajo con metanol durante ocho días más, a temperatura ambiente. Los extractos obtenidos se concentraron en un rotavapor bajo presión reducida. Una vez concentrados los extractos, se pesaron (222 g de extracto con Hexano y 226 g con metanol); una porción (50 g) de cada uno se dejó almacenada en frascos color ámbar en la nevera para la realización de pruebas biológicas, el resto se utilizó para la separación y purificación de los componentes presentes.

Previo a la separación y purificación de estos extractos, se realizaron pruebas de citotoxicidad en células normales derivadas del riñón de embrión de mono Rhesus (MA-104 ATCC N° CRL-2378) con el fin de evaluar la viabilidad celular y la citotoxicidad de los extractos y de esta manera realizar un estudio biodirigido en aquellos extractos que no mostraron actividad citotóxica (ver sección 6.7, pagina 117).

5.2.1.- Técnicas generales

Los extractos crudos de *Vismia guianensis* fueron fraccionados por cromatografía de columna abierta y mediante el uso de la cromatografía en capa fina se observaron cada una de las fracciones eluidas de estas columnas. Estos procedimientos se realizaron en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la ULA.

5.2.1.1.- Técnicas cromatográficas

5.2.1.1.1.- Cromatografía de columna (CC)

Se desarrolló en columnas de vidrio con diferentes dimensiones usando como fase estacionaria gel de sílice Merck (70-230 Mesh, 60-200 μm , 60Å), empleando como fase móvil hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol puros y en mezclas. Para este procedimiento, los extractos secos se mezclaron con gel de sílice en un mortero hasta formar una mezcla pulverulenta que se colocó como cabeza en la columna.

5.2.1.1.2.- Cromatografía de capa fina (CCF)

Se realizó sobre placas de gel de sílice Merck DC-Autofolien 60 F254 con soporte de aluminio con un espesor 0,25 mm. Otras se elaboraron en placas de vidrio de 20 x 20 cm, con un espesor de 0,20 mm de sílica (230-400 mesh ASTM) Scharlau®. Como eluyente se empleó hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol, puros y en mezclas; el revelado en la mayoría de los casos se llevó a cabo con solución de H₂SO₄ al 10% y posterior calentamiento hasta el desarrollo del color. En otras ocasiones se revelaron físicamente haciendo uso de una fuente de luz ultravioleta.

5.2.1.2.- Espectroscopia de infrarrojo (IR)

Los espectros se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin Elmer RX1 modelo FT-1605, en pastillas de KBr sobre celdas de NaCl. Esta técnica permite identificar los grupos funcionales de los compuestos aislados con base a la longitud de onda de absorción, característico de cada grupo.

5.2.1.3.- Espectroscopia de ultravioleta (UV)

Los espectros se registraron en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Lambda 3B, empleando celdas de cuarzo de 1x1x1 cm y MeOH como disolvente.

5.2.1.4.- Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)

Los espectros de RMN¹H y RMN¹³C se midieron en un espectrómetro Bruker Avance DRX 400 a 400 y 100 MHz, respectivamente. Se utilizaron CDCl₃, MeOD y D₂O como disolventes y las asignaciones se confirmaron mediante los experimentos DEPT 135°, COSY 90°, HMBC y HMQC. Permitiendo identificar cada uno de los compuestos puros presentes.

5.2.1.5.- Técnica cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM)

Los espectros de masas de los compuestos puros se determinaron a través de la técnica acoplada CG-EM en un cromatógrafo de gases modelo 6980 equipado con un detector de masas Hewlett Packard modelo 5973, el potencial ionización fue de 70 eV.

5.2.1.6.- Determinación de los puntos de fusión (p.f.)

Se midieron en un fusímetro FISATOM 430 D digital con temperatura máxima de 310 °C, los valores se presentan sin corrección.

5.2.1.7.- Cristalografía

Los patrones de difracción se registraron en el difractómetro Philips PW 1050/25 automatizado por Crystal Logic, Inc., del Laboratorio de Cristalografía, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Este equipo tiene una geometría Bragg-Brentano y una radiación CuK α ($\lambda=1,54184 \text{ \AA}$), trabajando a 50 kV y 25 mA. Usualmente el patrón se mide con un paso de 0,02° (2 θ), entre 5 y 60° a 10 seg/paso.

5.3.- Separación de los compuestos químicos

5.3.1.- Fraccionamiento del extracto metanólico concentrado usando diferentes solventes en polaridad creciente

El extracto metanólico (EM) crudo fue sometido a fraccionamiento empleando la técnica de cromatografía en columna (fase estacionaria gel de sílice Merck 70-230 Mesh, 60-200 μm , 60 Å), usando diferentes solventes en polaridad creciente como fase móvil. La elución se inició con hexano (H) al 100 % (3 L), seguido por mezclas de hexano/diclorometano (HD) en proporción 1:1 (4 Lt), diclorometano (D) 100 % (6 L), diclorometano/acetato de etilo (DA), 1:1 (6 L), acetato de etilo (A) 100 % (5 L), acetato de etilo/metanol (AM), 1:1 (6 L) y metanol (M) 100 % (4 L). Todas las fracciones obtenidas fueron analizadas por cromatografía en capa fina, concentradas a presión reducida en un rotavapor a una temperatura inferior a los 65 °C, obteniéndose los siguientes fracciones: EMH (8 g), EMHD (10 g), EMD (18 g), EMDA (20 g), EMA (21 g), EMAM (24 g) y EMM (18 g) (figura 15, pag 68), una vez terminado el fraccionamiento se obtuvo una masa insoluble en los solventes orgánicos usados, la cual se denominó extracto residual, ER (20,6 g). Igualmente, todas estas fracciones fueron analizadas por cromatografía en capa fina con el propósito de definir cuáles serían de interés para el estudio fitoquímico.

5.3.1.1.- Fracción EMD de las hojas de *Vismia guianensis*

El perfil cromatográfico observado en los extractos obtenidos del primer fraccionamiento de EM mostró que EMH y EMHD solo revelaron la presencia de pigmentos y ceras, mientras que EMM mostró compuestos de alta polaridad como residuos azucarados, entre otros; por lo que se continuó con el estudio fitoquímico de las fracciones EMD, EMDA, EMA y EMAM.

El EMD (18 g) se fraccionó mediante CC por gravedad (columna I) usando las condiciones explicadas en el literal 5.2.1.1.1, pag 61, y como fase móvil mezclas con solventes en polaridad creciente comenzando con H, HD, D, DM y M. En total se recogieron 213 fracciones de 40 mL cada una, las mezclas de solventes usadas así como las fracciones eluidas de esta columna se muestran en la tabla 20. Todas las fracciones

obtenidas de la columna I se analizaron por cromatografía en capa fina (CCF) y se reunieron de acuerdo a su perfil cromatográfico, para continuar con la siguiente fase de la separación y purificación (tabla 21).

Tabla 20. Fracciones eluidas durante la separación cromatográfica de EMD de *Vismia guianensis*.

Fracciones (40mL)	Eluyentes (500mL)
EMD 001-012	Hex (100%)
EMD 013-023	Hex/CH ₂ Cl ₂ (90:10)
EMD 024-035	Hex/CH ₂ Cl ₂ (80:20)
EMD 036-047	Hex/CH ₂ Cl ₂ (70:30)
EMD 048-058	Hex/CH ₂ Cl ₂ (60:40)
EMD 059-069	Hex/CH ₂ Cl ₂ (50:50)
EMD 070-081	Hex/CH ₂ Cl ₂ (50:50)
EMD 082-092	Hex/CH ₂ Cl ₂ (40:60)
EMD 093-104	Hex/CH ₂ Cl ₂ (30:70)
EMD105-115	Hex/CH ₂ Cl ₂ (20:80)
EMD116-127	Hex/CH ₂ Cl ₂ (10:90)
EMD128-139	CH ₂ Cl ₂ (100%)
EMD140-149	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (90:10)
EMD150-161	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (80:20)
EMD172-181	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (70:30)
EMD182-194	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (60:40)
EMD195-204	CH ₂ Cl ₂ /MeOH (50:50)
EMD 204-213	MeOH (100%)

Tabla 21. Unión de las fracciones obtenidas de la columna I de EMD

Muestra	Fracción
EMD 8	3 a la 8
EMD 25	18 a la 25
EMD 31	27 y 31
EMD 54	46 a la 54
EMD 67	61 a la 67
EMD 82	78 a la 82
EMD 90	85 a la 90
EMD 121	109 a la 121
EMD 137	128 a la 137
EMD 152	148 a la 152
EMD 194	172 a la 194
EMD 213	202 a la 213

5.3.1.2.- Fracción EMDA de las hojas de *Vismia guianensis*

De la columna II de EMDA (20 g) de las hojas de *Vismia guianensis* usando las condiciones explicadas en el literal 5.2.1.1.1, pag 61, se obtuvieron 221 fracciones de 40 mL cada una, usando como fase móvil solventes en polaridad creciente comenzando con H y luego mezclas de H, D, A y M. Las mezclas de solventes usadas, así como las fracciones eluidas de esta columna se muestran en la tabla 22. Todas las fracciones obtenidas de la columna II se analizaron por cromatografía en capa fina (CCF) y se reunieron de acuerdo a su perfil cromatográfico (tabla 23).

Tabla 22. Fracciones eluidas durante la separación cromatográfica del EMDA de *Vismia guianensis*

Fracciones (40mL)	Eluyentes (500mL)
EMDA 001-012	Hex (100%)
EMDA 013-025	Hex/CH ₂ Cl ₂ (50:50)
EMDA 026-036	Hex/CH ₂ Cl ₂ (30:70)
EMDA 037-045	CH ₂ Cl ₂ (100%)
EMDA 046-058	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (90:10)
EMDA 059-071	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (80:20)
EMDA 072-084	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (70:30)
EMDA 085-095	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (60:40)
EMDA 096-109	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (50:50)
EMDA 110-121	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (40:60)
EMDA 122-133	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (30:70)
EMDA 134-145	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (20:80)
EMDA 146-158	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (10:90)
EMDA 159-171	AcOEt (100%)
EMDA 172-184	AcOEt/MeOH (80:20)
EMDA 185-196	AcOEt/MeOH (70:30)
EMDA 197-210	AcOEt/MeOH (50:50)
EMDA 211-221	MeOH (100%)

Tabla 23. Fracciones obtenidas de la columna II del extracto EMDA y reunidas tomando en cuenta su perfil cromatográfico

Muestra	Fracción
EMDA 3	1 a la 3
EMDA 8	3 a la 8
EMDA 11	9 a la 11
EMDA 30	23 a la 30
EMDA 48	31 a la 48
EMDA 79	49 a la 79
EMDA 138	80 a la 138
EMDA 161	139 a la 161
EMDA 192	162 a la 192
EMDA 221	193 a la 221

5.3.1.3.- Fracción EMA de las hojas de *Vismia guianensis*

Con la columna III de EMA (21 g) se procedió a fraccionar mediante el sistema explicado en el literal 5.2.1.1.1, pag 61, utilizando solventes en polaridad creciente comenzando con H y luego mezclas de D, A y M. Se recogieron en total 194 fracciones de 40 mL cada una; las mezclas de solventes y fracciones eluidas de esta columna se muestran en la tabla 24, así mismo, todas las fracciones obtenidas de esta columna se analizaron por cromatografía de capa fina agrupándose de acuerdo a su perfil cromatográfico (tabla 25).

Tabla 24. Fracciones eluidas durante la separación cromatográfica del EMA de *Vismia guianensis*

Fracciones (40mL)	Eluyentes (500mL)
EMA 001-010	Hex (100%)
EMA 011-023	CH ₂ Cl ₂ (100%)
EMA 024-036	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (50:50)
EMA 037-044	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (30:70)
EMA 045-056	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (10:90)
EMA 057-068	AcOEt (100%)
EMA 069-071	AcOEt/MeOH (90:10)
EMA 072-085	AcOEt/MeOH (80:20)
EMA 086-098	AcOEt/MeOH (70:30)
EMA 099-112	AcOEt/MeOH (60:40)
EMA 113-125	AcOEt/MeOH (50:50)
EMA 126-139	AcOEt/MeOH (40:60)
EMA 140-154	AcOEt/MeOH (30:70)
EMA 155-167	AcOEt/MeOH (20:80)
EMA 168-181	AcOEt/MeOH (10:90)
EMA 182-194	MeOH (100%)

Tabla 25. Fracciones obtenidas de la columna III del extracto EMA y reunidas de acuerdo a su perfil cromatográfico

Muestra	Fracción
EMA 7	3 a la 7
EMA 26	21 a la 26
EMA 41	29 a la 41
EMA 49	42 a la 49
EMA 58	52 a la 58
EMA 75	68 a la 75
EMA 129	96 a la 129
EMA 167	150 a la 167
EMA 189	178 a la 189
EMA 194	189 a la 194

5.3.1.4.- Fracción EMAM de las hojas de *Vismia guianensis*

Para la columna IV de EMAM (24 g), se utilizó el mismo procedimiento explicado en el literal 5.2.1.1.1, pag 61, utilizando como fase móvil H y mezclas con A y M. Se recogieron un total de 172 fracciones de 40 mL cada una; las mezclas de solventes y fracciones eluidas de esta columna se muestran en la tabla 26. De igual manera todas las fracciones se analizaron por CCF y se muestran en la tabla 27.

Tabla 26. Fracciones eluidas durante la separación cromatográfica del EMAM de *Vismia guianensis*

Fracciones (40mL)	Eluyentes (500mL)
EMAM 001-012	Hex (100%)
EMAM 013-025	Hex/CH ₂ Cl ₂ (50:50)
EMAM 026-036	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (50:50)
EMAM 037-049	AcOEt/MeOH (90:10)
EMAM 050-064	AcOEt/MeOH (80:20)
EMAM 065-077	AcOEt/MeOH (70:30)
EMAM 078-090	AcOEt/MeOH (60:40)
EMAM 091-105	AcOEt/MeOH (50:50)
EMAM 106-119	AcOEt/MeOH (40:60)
EMAM 120-132	AcOEt/MeOH (30:70)
EMAM 133-145	AcOEt/MeOH (20:80)
EMAM 146-159	AcOEt/MeOH (10:90)
EMAM 160-172	MeOH (100%)

Tabla 27. Unión las fracciones de la columna IV del EMAM por su perfil cromatográfico

Muestra	Fracción
EMAM 8	4 a la 8
EMAM 20	13 a la 20
EMAM 25	21 a la 25
EMAM 32	27 a la 32
EMAM 36	33 a la 36
EMAM 41	38 a la 41
EMAM 48	42 a la 48
EMAM 52	49 a la 52
EMAM 58	53a la 58
EMAM 172	69 a la 78

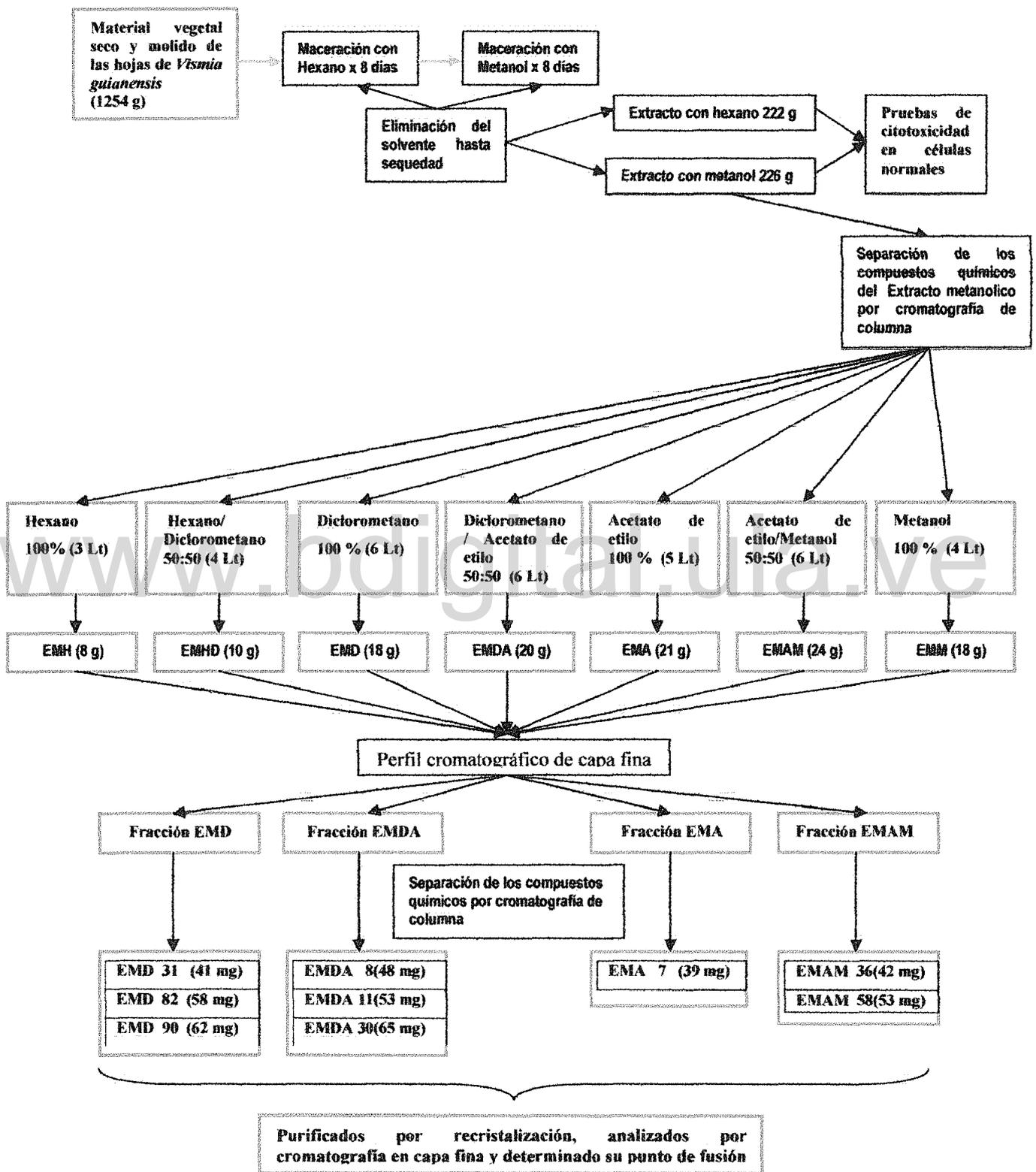
5.4.- Purificación de los compuestos químicos aislados en las columnas de cromatografía

De las fracciones obtenidas de las columnas (I, II, III, IV) se aislaron una serie de sustancias sólidas que fueron rotuladas de acuerdo a la columna y al número de la unión de las fracciones de donde provinieron. Estos compuestos fueron purificados por recristalización, analizados por cromatografía en capa fina y determinando su punto de fusión. En la tabla 28 se resumen estos compuestos con las siglas de identificación, solventes usados en la extracción, puntos de fusión y pesos en mg.

Tabla 28. Fracciones obtenidas a partir de la purificación de los compuestos

Colum./siglas	Fracc./Solven.	Punto de fusión	Compuesto (mg)
I EMD	27-31 H/D 80:20	230-232°C	EMD 31(41 mg)
	72-82 H/D 50:50	260-263°C	EMD 82(58 mg)
	85-90 H/D 40:60	290-295°C	EMD 90(62 mg)
II EMDA	3-8 H 100%	270-275°C	EMDA 8(48 mg)
	9-11 H 100%	298-301°C	EMDA 11(53 mg)
	23-30 H/D 30:70	238-241°C	EMDA 30(65 mg)
III EMA	3-7 H 100%	250-252°C	EMA 7 (39 mg)
IV EMAM	33-36 H/A 50:50	98-101°C	EMAM 36(42 mg)
	49-52 A/M 80:20	193-195°C	EMAM 58(53 mg)

Figura 15. Protocolo experimental aplicado para el aislamiento de los compuestos químicos de *Vismia guianensis*.



5.5.- Elucidación de las estructuras moleculares

En su mayoría los compuestos separados y purificados en el presente estudio fueron caracterizados mediante las técnicas espectroscópicas RMN¹H, RMN¹³C, DEPT 135°, COSY 90°, HMBC, HMQC y la técnica acoplada CG-EM. Las técnicas de RMN mono y bidimensionales fueron realizadas en el laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes contando con la asesoría de los Drs. Ali Bashas y Sonia Koteich. La descripción de los equipos y solventes usados en estos experimentos se explicó en el literal 5.2.1, pag 61.

Por otro lado, la técnica cromatográfica CG/EM fue realizada en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia con la asesoría de los Drs. Luis Rojas y Rosa Aparicio, (sección 5.2.1, pag 61).

5.6.- Pruebas de actividad biológica

Los extractos y compuestos puros aislados de las hojas de *Vismia guianensis* se evaluaron para determinar sus propiedades antibacteriana, antifúngica, larvicida, citotóxica y antioxidante. A continuación se describen los protocolos experimentales correspondientes a dichas pruebas de actividad biológica.

5.6.1.- Actividad Citotóxica

Esta actividad biológica se realizó en el Laboratorio de Microbiología de medicamentos y productos naturales, Departamento Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la asesoría de la Lic. Ana Roa López.

Cultivo y mantenimiento de las células: para evaluar la citotoxicidad se usaron células normales derivadas de riñón de embrión de mono Rhesus (MA-104 ATCC N° CRL-2378). El mantenimiento de la línea celular se realizó cultivando las células MA-104 en frascos Falcon® de 25 mL usando un medio Mínimo Esencial Eagle's (MEM) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (SFB), Penicilina® (100.000 UI/L), Anfotericina B® (2,5 mg/L) y Gentamicina® (40 mg/L) y se mantuvieron en incubación en atmósfera húmeda con 5 % de CO₂ a 37 °C. El crecimiento de las células MA-104 se

realizó en platos de 96 pozos con el medio indicado anteriormente hasta que se obtuvieron monocapas confluentes (5 días).

El estudio de viabilidad celular y la citotoxicidad se realizó mediante el método descrito por Cory y colaboradores (Cory *et al.*, 1991), con algunas modificaciones. Se cultivaron monocapas confluentes de células MA-104 en platos de 96 pozos. Se prepararon diferentes concentraciones de los extractos (de 10 a 500 µg/ml) en medio mínimo modificado (MEM), partiendo de una concentración patrón del extracto en DMSO a una concentración de 100 mg/mL.

Se sustituyó el medio de cultivo celular por medio de cultivo que contenía las concentraciones respectivas de cada extracto, dejando pozos solo con MEM para usarlos como control. Se incubaron durante 24 horas en condiciones estándar a 37 °C. Una vez incubado, se retiró el medio y se lavaron las monocapas celulares con PBS. Se adicionó la mezcla del reactivo de detección MTS/PMS diluido en medio de cultivo celular según las indicaciones del fabricante (Promega Corporation. *Cell Proliferation Assay Technical*, Madison, Wisconsin, USA. 1978), a todos los pozos, tanto de las células tratadas como las de control.

Se realizó una medida de absorbancia en un lector para placas ELISA para determinar el valor basal y se incubaron nuevamente a 37 °C durante 2 horas. Transcurrido este tiempo se determinó la absorbancia del Formazán, un producto de la bio-reducción del sustrato MTS-PMS por parte de enzimas deshidrogenasas mitocondriales de células metabólicamente activas.

El extracto se consideró citotóxico a partir de la concentración en la cual fue capaz de inducir el 20 % de muerte celular. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. La absorbancia generada como ruido por efecto de los reactivos (pozos control con reactivos) fue deducida de la absorbancia generada por las células expuestas.

5.6.2.- Actividad antibacteriana

Para la evaluación de la actividad antibacteriana se empleó el método de difusión en agar con discos impregnados (método de Kirby-Bauer). La actividad se realizó en el

Laboratorio de Bioquímica del Departamento de Bioanálisis Clínico, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, bajo tutoría de la Dra. María Eugenia Lucena. Dieciséis muestras (16) fueron evaluadas, entre estas, siete extractos (EMH, EMHD, EMD, EMDA, EMA, EMAM y EMM) y nueve compuestos puros (EMD, 31, 82, 90; EMDA 8, 11, 30; EMA 7; EMAM 36, 58). Las cepas usadas en el ensayo fueron: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357).

El método a emplear permitió medir la susceptibilidad *in vitro* de bacterias patógenas frente a una sustancia o mezcla de sustancias de origen vegetal. El protocolo experimental que se siguió ha sido empleado en estudios anteriores (Cárdenas *et al.*, 2012; Rangel *et al.*, 2001; Rojas *et al.*, 2011; Velasco *et al.*, 2006) y se describe a continuación:

Preparación de los inóculos bacterianos: se preparó a partir de cepas puras repicadas en agar *caldo nutritivo*, para ello se tomó, con un asa, una pequeña cantidad de muestra la cual se suspendió en tubos con solución de cloruro de sodio estéril (NaCl) al 0,85%, hasta lograr una turbidez correspondiente al patrón McFarland 0,5; que contiene aproximadamente entre 1×10^6 y 1×10^8 UFC/mL (unidades formadoras de colonias por cada mililitro).

Preparación de las placas de Petri: se depositaron 15 mL del medio de cultivo estéril (preparado a partir de 38 g de agar *Müller-Hinton* por cada litro de agua destilada), en cada una de las placas de Petri. Posteriormente estas placas se dejaron secar a temperatura ambiente.

Inoculación: una vez secas las placas de Petri y rotuladas de acuerdo a la bacteria a inocular, se sembró el inóculo bacteriano sobre cada una de ellas, para esto se usó un hisopo estéril impregnado con la solución de bacteria correspondiente, el cual se dispersó de manera homogénea a través de toda la superficie del agar.

Ubicación de los discos en las placas de Petri: se colocaron sobre la superficie del agar, discos de papel de filtro Whatman® ½ Im (740-E) de 12 mm de diámetro, los cuales se distribuyeron de manera simétrica junto con el control negativo (disco impregnado con dimetilsulfóxido, DMSO) y el control positivo (disco estándar del antibiótico correspondiente, para *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *E. coli* Amikacina® de 30 µg, para *S. aureus* Eritromicina® de 15 µg y para *E. faecalis* Ampicilina® de 10 µg). Los discos fueron previamente esterilizados 24 horas bajo luz ultravioleta e impregnados unos minutos antes con 50 µL de la solución a ensayar (las concentraciones iniciales fueron de 20.000 µg/mL para los extractos y 400 µg/mL para los compuestos puros).

Preincubación e incubación: luego de la ubicación de los discos en la placas de Petri, éstas se preincubaron en nevera a 4 °C durante 6 horas y pasado este tiempo se incubaron en estufa a 37 °C durante 24 horas.

Lectura de los ensayos: pasadas las 24 horas de incubación se revisaron las placas y se midieron los diámetros de los halos de inhibición alrededor del disco. La presencia de un halo de inhibición alrededor del disco se interpretó como resultado positivo y este halo se midió y reportó en milímetros (mm), mientras que la ausencia del mismo se tomó como resultado negativo.

Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI): la determinación de la CIM se realizó solo en los extractos y compuestos puros donde se observaron halos de inhibición. Se prepararon soluciones en DMSO de diferentes concentraciones (de 20.000 µg/mL a 1.000 µg/mL para los extractos y de 400 µg/mL a 2 µg/mL para los compuestos puros) y se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente.

5.6.3. Actividad antifúngica

Esta evaluación se realizó en el Laboratorio de Micología ubicado en el Edificio de Microbiología y Parasitología “Gonzalo Gonzales” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis bajo la Supervisión de la Dra. Celina Pérez de Salazar, Médico-Infectólogo.

Para el sondeo antifúngico de las dieciséis (16) muestras, entre ellas siete extractos (EMH, EMHD, EMD, EMDA, EMA, EMAM y EMM) y nueve compuestos puros (EMD 31, 82, 90; EMDA 8, 11, 30; EMA 7; EMAM 36, 58), se utilizaron seis especies de levaduras (*Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida tropicalis* ATCC 50658, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 y *Cryptococcus neoformans*). Dicho ensayo es similar al utilizado para las bacterias, con las siguientes diferencias:

Preparación de los inóculos fúngicos: se prepararon a partir de cepas puras replicadas en agar Sabouraud Dextrosa (SDA) con cloranfenicol; para ello se tomó con un asa, una pequeña cantidad de muestra que se suspendió en tubos con solución de cloruro de sodio estéril (NaCl) al 0,85 %, hasta lograr una turbidez correspondiente al patrón McFarland 0,5.

Preparación de las placas de Petri: se depositaron 15 mL del medio de cultivo estéril en cada una de las placas de Petri. El medio se preparó a partir de 38 g de agar *Müller-Hinton* modificado con 20 g de Glucosa anhidra y 100 µL de solución acuosa de azul de metileno a una concentración de 5 mg/mL, por cada litro de agua destilada. Las placas se dejaron secar a temperatura ambiente.

Inoculación: una vez secas las placas de Petri y rotuladas de acuerdo a la levadura a inocular, se sembró el inóculo sobre cada una de ellas, para esto se usó un hisopo estéril impregnado con la solución de levadura correspondiente, el cual se dispersó de manera homogénea a través de toda la superficie del agar.

Ubicación de los discos en las placas de Petri: se colocaron sobre la superficie del agar, discos estériles de papel de filtro Whatman® No. 1 de 6 mm de diámetro. Los discos se distribuyeron de manera simétrica dentro de la placa, junto con el control negativo (disco impregnado con dimetilsulfóxido, DMSO) y el control positivo (disco estándar del antimicótico Fluconazol® 25 µg y Ketoconazol® 25 µg). Los discos fueron previamente esterilizados 24 horas bajo luz ultravioleta e impregnados unos minutos antes con 20 µL de

la solución a ensayar (las concentraciones iniciales fueron de 20.000 µg/mL para los extractos y 400 µg/mL para los compuestos puros).

Incubación: las placas de Petri se incubaron en estufa a 37 °C durante 48 horas.

Lectura de los ensayos: pasadas las 48 horas de incubación se revisaron las placas y se midieron los diámetros de los halos de inhibición alrededor del disco. La presencia de un halo de inhibición alrededor del disco se interpretó como resultado positivo y este halo se midió y reportó en milímetros (mm), mientras que la ausencia del mismo se tomó como resultado negativo.

Determinación de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI): la determinación de la CIM se realizó solo en los extractos y compuestos puros donde se observaron halos de inhibición. Se prepararon soluciones en DMSO de diferentes concentraciones para cada muestra a ensayar y se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

5.6.4.- Actividad larvicida

Esta actividad fue realizada en el Laboratorio del Grupo de Química Ecológica, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, bajo la asesoría del MSc. Jorge Luis Ávila Núñez y la Dra. María Pía Calcagno de López.

Se utilizaron cepas susceptibles de *Aedes aegypti* (L.), criadas por el Grupo de Química Ecológica, del Departamento de Química, Facultad de Ciencias. Los huevos de la cepa se colocaron a eclosionar en un recipiente con 2 litros de agua corriente, en donde se sumergió una tira de papel absorbente que contenía los huevos de *Aedes aegypti* (L.); se esperó la evolución de las larvas hasta su III estadio, antes de realizar el ensayo biológico. El agua fue cambiada diariamente para la oxigenación de las larvas y se le añadió como alimento, hígado de res deshidratado y pulverizado.

La prueba de susceptibilidad larval se realizó siguiendo el método de la organización mundial de la salud (OMS. 1981), donde la cantidad necesaria de cada

extracto y compuestos puros evaluados fue disuelta en agua destilada para obtener la concentración de 500 µg/mL. Se transfirieron 10 larvas del tercer instar por réplica a recipientes que contenían 50 mL de la solución de prueba.

En los controles, un igual número de larvas se colocó solo en agua destilada. Se realizaron tres réplicas para cada extracto y control. Como control positivo se usaron (fosforotionato de tetrametil tio di *p* fenileno) conocido comercialmente como Abate® (0,05 mg/L) y como control negativo se empleó DMSO 1 % ó acetona 5 %, dependiendo de la solubilidad del extracto o fracción.

Las lecturas de mortalidad larvaria, se realizaron a las 1, 6, 12, 24, 36 y 48 h de exposición. Después de 24 horas, se registró el número de larvas muertas, incluyendo en esta condición aquellas que eran incapaces de subir a la superficie para respirar. El bioensayo se desarrolló a 26 ± 2 °C, humedad relativa entre 75 y 80 % y un fotoperiodo de 12 horas.

5.6.5.- Actividad Antioxidante

El estudio se realizó bajo la supervisión de la Dra. Lorena Díaz, en el laboratorio de Ciencias de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes de acuerdo al modelo experimental Test con 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•) (Goupy *et al*, 2009).

El método de DPPH• es un ensayo colorimétrico simple basado en la disminución en la absorbancia a 517 nm del radical DPPH• (púrpura profunda) después de la adición de un compuesto antioxidante en la solución. Dicho antioxidante provocará una reacción química, cambiándolo de violeta a amarillo (Halliwell y Gutteridge, 1990).

Los métodos espectrofotométricos, como el DPPH•, se basan en la absorbancia a una longitud de onda que pueden presentar interferencias debidas a compuestos coloreados presentes en las especies vegetales, es por esto que se deben estandarizar las diluciones de los extractos concentrados a fin de que estos pigmentos no interfieran con el estudio. Este

es un factor importante a considerar cuando se analiza la actividad antioxidante (Halliwell y Gutteridge, 1990). A continuación se describe el diseño experimental que se aplicó en el desarrollo de esta actividad.

Preparación de las concentraciones: se pesaron 20 mg de cada extracto y producto puro a ensayar. Cada muestra se solubilizó en metanol (5 mL) y luego se tomó una alícuota de 200 μ l de cada solución, lo que corresponde a una concentración de 4 mg/mL.

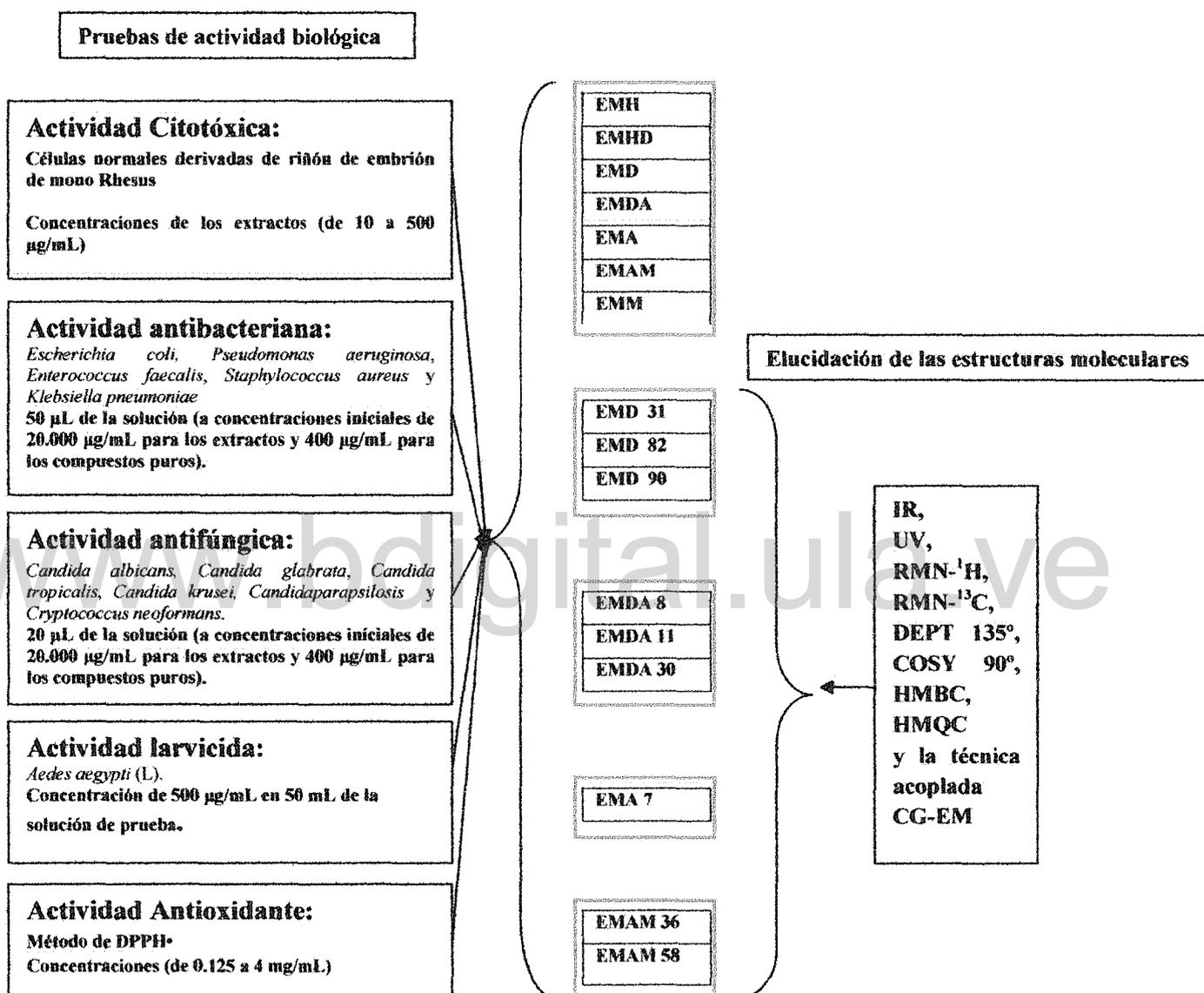
Test antioxidante: a 2,8 mL de la solución de DPPH• a 6×10^{-2} mM preparado en metanol, se le agregó 200 μ l de cada extracto. La prueba se realizó por triplicado y se observó el cambio de color del reactivo de morado a amarillo. Como control positivo se empleó Ácido Ascórbico a la concentración de 0,176 mg/ml.

Medición de las absorbancias: las mezclas de reacción se incubaron en la oscuridad durante 30 minutos. Posteriormente se midieron las absorbancias a 517 nm en un espectrofotómetro UV. Las muestras que exhibieron un cambio considerable de absorbancia y según los cálculos mostraban un porcentaje de reducción del DPPH• cerca o superior al 50 % fueron evaluadas de forma cuantitativa, es decir, a diferentes concentraciones (4; 3; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125 mg/mL), con el objetivo de calcular los porcentajes de inhibición media (IC_{50}) o la concentración en la cual el porcentaje de reducción de radical es del 50 %. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Los datos obtenidos del análisis de regresión lineal del estudio de la recta se determinaron a través de una extrapolación al eje de las X, el cual expresa las concentraciones relacionadas con el eje de las Y donde se encuentran los porcentajes de inhibición de los radicales libres. Valores muy bajos de absorbancia de la mezcla reaccionante son indicativos de una alta capacidad secuestrante de radicales libre (CSRL), expresada numéricamente mediante la ecuación.

$$\% \text{CSRL} = [\text{Abs DPPH} - \text{Abs muestra} / \text{Abs DPPH} \bullet] \times 100$$

Figura 16. Protocolo experimental aplicado para las pruebas de actividad biológica y elucidación de las estructuras moleculares de los compuestos químicos de *Vismia guianensis*.



6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los extractos obtenidos con solventes de diferentes polaridades de las hojas de *Vismia guianensis*, se aislaron y purificaron mediante diversas técnicas cromatográficas nueve compuestos químicos, de los cuales cuatro han sido previamente identificados en otras especies de *Vismia*; siendo considerados, inclusive, marcadores taxonómicos. También se aisló un metabolito secundario que no ha sido reportado previamente para el género y cuatro sustancias químicas que fueron purificadas e identificadas mediante diferentes técnicas.

La identificación que se presenta a continuación se basa tanto en los datos espectrales (RMN¹H, RMN¹³C, COSY, HMQC, HMBC, CG/EM, Difractograma) obtenidos en el presente estudio como en comparaciones con las señales más características reportadas previamente para estos compuestos.

6.1. Compuesto EMDA 30 {4-4'-Bis (2,3-metilendioxfenil)-3,3'-dioxabicyclo [3.3.0] octano} Sesamina.

De la columna II, en las fracciones eluidas con la mezcla de solventes hexano/diclorometano 30:70, se obtuvo un sólido que al ser recristalizado con metanol proporcionó una sustancia color ámbar en forma de agujas (65 mg) cuyo punto de fusión fue de 238-241 °C. Este compuesto se observó como una sola mancha al ser analizado por cromatografía de capa fina recorrida con la mezcla hexano/diclorometano 20:80.

En el espectro de RMN¹H (Figuras 17 y 18) se detecta un singulete centrado a δ 6,81 ppm que integra para un protón correspondiente al H₆, dos dobletes que se observan fusionados e integran para un protón cada uno y se encuentran a δ 6,79 ppm ($J= 9,5$ Hz; H₁₃) y δ 6,77 ppm ($J= 8,1$ Hz; H₁₂); este conjunto de señales forman un sistema ABC el cual es característico para núcleos aromáticos trisustituidos asimétricos. A campo más alto se observa un singulete a δ 5,95 ppm (H₉) que integra para dos protones por lo que puede tratarse de un grupo metileno unido a un átomo electronegativo. Centrado a δ 4,72 ppm se observa un doblete con integración para 1H ($J= 3$ Hz) indicativo de la presencia del protón

(H₄). Seguidamente se aprecia un sistema ABX correspondiente a un metileno que se observa como dos dobletes de dobletes, es decir dos protones que se encuentran sobre un mismo carbono y que por sus diferencias magnéticas se observan con desplazamientos desiguales, uno más desapantallado a δ 4,23 ppm ($J= 8$ y 9 Hz, 1H, H_{2b}) y el otro a δ 3,85 ppm ($J= 9$ y 9 Hz, 1H, H_{2a}) y un multiplete a δ 3,09 ppm con integración para 1H correspondiente a un grupo sp (H₁).

El espectro RMN¹³C (Figura 19) junto al experimento DEPT 135° (Figura 20) muestran la presencia de diez átomos de carbono en la molécula, entre los cuales se encuentran tres carbonos cuaternarios a 148,30 ppm (C₇), 147,44 ppm (C₁₁) y 135,41 ppm (C₅), dos carbonos secundarios a 101,4 ppm (C₉) y 2,04 ppm (C₂), tres señales correspondientes a carbonos terciarios que se observan muy desapantallados a 119,68 ppm (C₆), 108,51 ppm (C₁₂) y 106,82 ppm (C₁₃) y otras dos señales restantes que se observan a 86,12 ppm (C₄) y 54,66 ppm (C₁) relacionadas con carbonos terciarios.

Al comparar los datos espectrales obtenidos en el presente estudio (tabla 29) con los reportados por (Salas *et al.*, 2006; Pelter *et al.*, 1979), se observan similitudes en las señales, por lo que se puede inferir que se trata de un compuesto de núcleo lignano conocido como sesamina. Al analizar la estructura, resalta su forma cíclica conformada por 20 átomos de carbono, sin embargo, por su condición de dímero solo muestra 7 señales en el RMN¹H que integran para un total de 9 protones, mientras que en el RMN¹³C solo se evidencian 10 señales correspondientes a 10 carbonos.

En adición, la información proporcionada por el espectro bidimensional COSY 90° (Figura 21) confirma las conectividades de los subgrupos estructurales de la sesamina donde se evidencia la presencia de un núcleo aromático trisustituido cuyas señales se observan entre δ 6 y 7 ppm. El grupo metilénico H₉ que muestra correlaciones con el sistema ABC aromático. Además, se pueden observar correlaciones específicas para un sistema ABX entre los hidrógenos vecinales H₁-H_{2a} y H₄-H_{2b} y los geminales H_{2a}-H_{2b}.

El espectro HMQC (Figura 22), muestra las correlaciones protón carbono de cada uno de los átomos presentes en la molécula, así se observan señales para H₆-C₆ (δ 6,81/119,68 ppm), H₁₃-C₁₃ (δ 6,79/106,82 ppm), H₁₂-C₁₂ (δ 6,77/108,51 ppm), H₉-C₉ (δ 5,95/101,40 ppm). Seguidamente se observan las correlaciones para H₄-C₄ (δ 4,72/86,12 ppm), H_{2b}-H_{2a}-C₂ (δ 4,23/δ 3,85/72,04 ppm), H₁-C₁ (δ 3,09/54,66 ppm).

De acuerdo al análisis descrito anteriormente se puede confirmar que el compuesto EMDA 30, se trata de {4-4'-Bis (2,3-metilendioxfenil)-3,3'-dioxabicyclo [3.3.0] octano} conocido como sesamina. Este metabolito secundario ha sido aislado previamente de las especies *V. guaramirangae*, *V. reichardtiana* y *V. baccifera* (Pelter *et al.*, 1979 y Salas *et al.*, 2006) y se le han probado actividades biológicas entre las que se puede señalar actividad citotóxica contra línea celular de cáncer de pulmón (Salas *et al.*, 2008) y actividad antibacteriana contra *S. aureus*, *E. faecalis*. y *P. aeruginosa*, exhibiendo valores de CIM entre 2 a 5 mg/mL (Salas *et al.*, 2007).

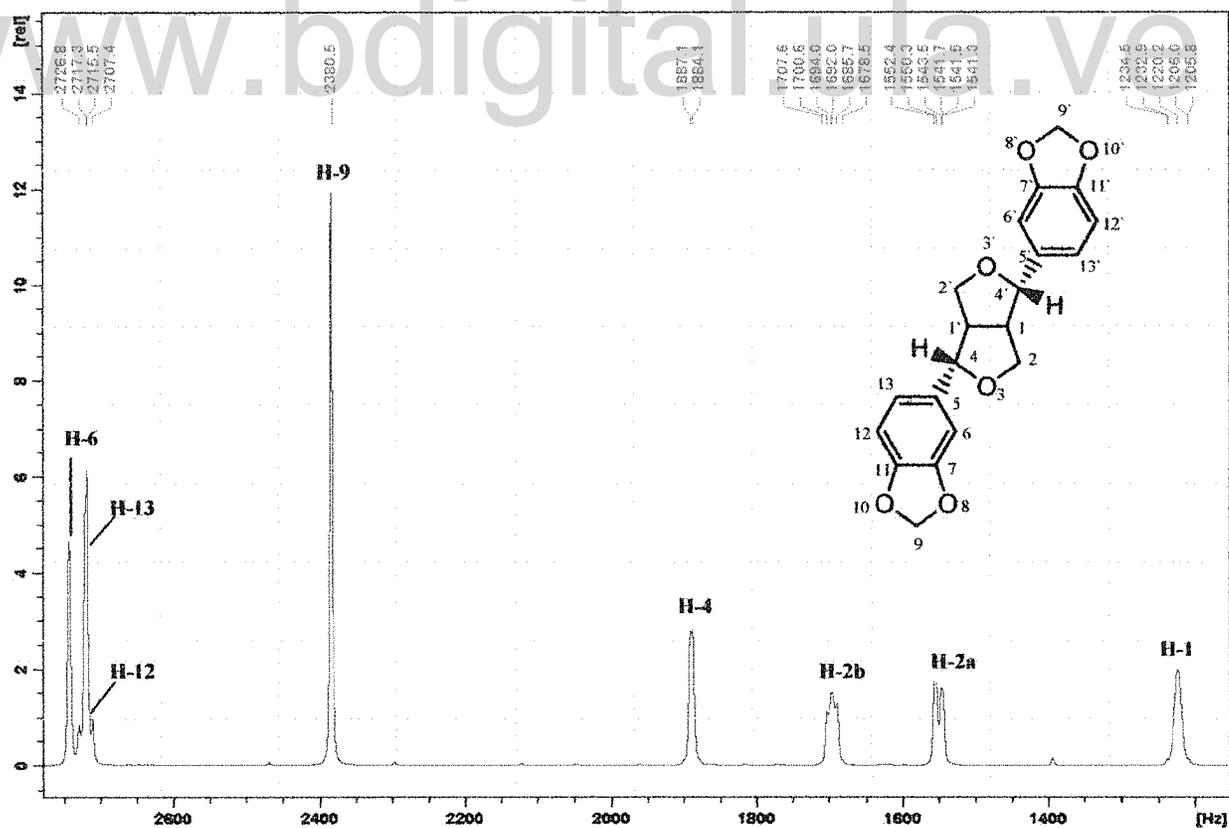


Figura 17. Sesamina, espectro de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz) (δ=Hz)

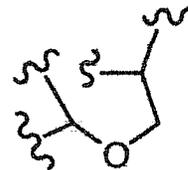
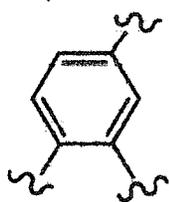
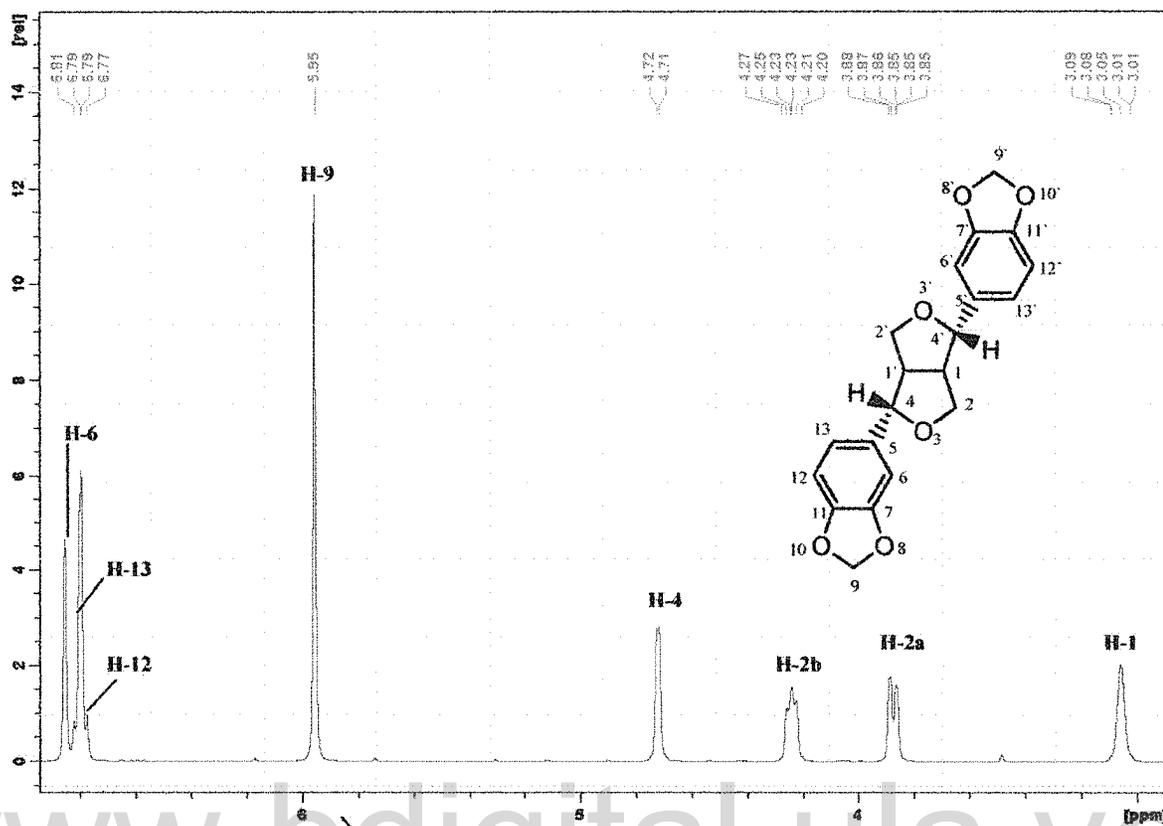


Figura 18. Sesamina, espectro de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz) (δ= ppm)

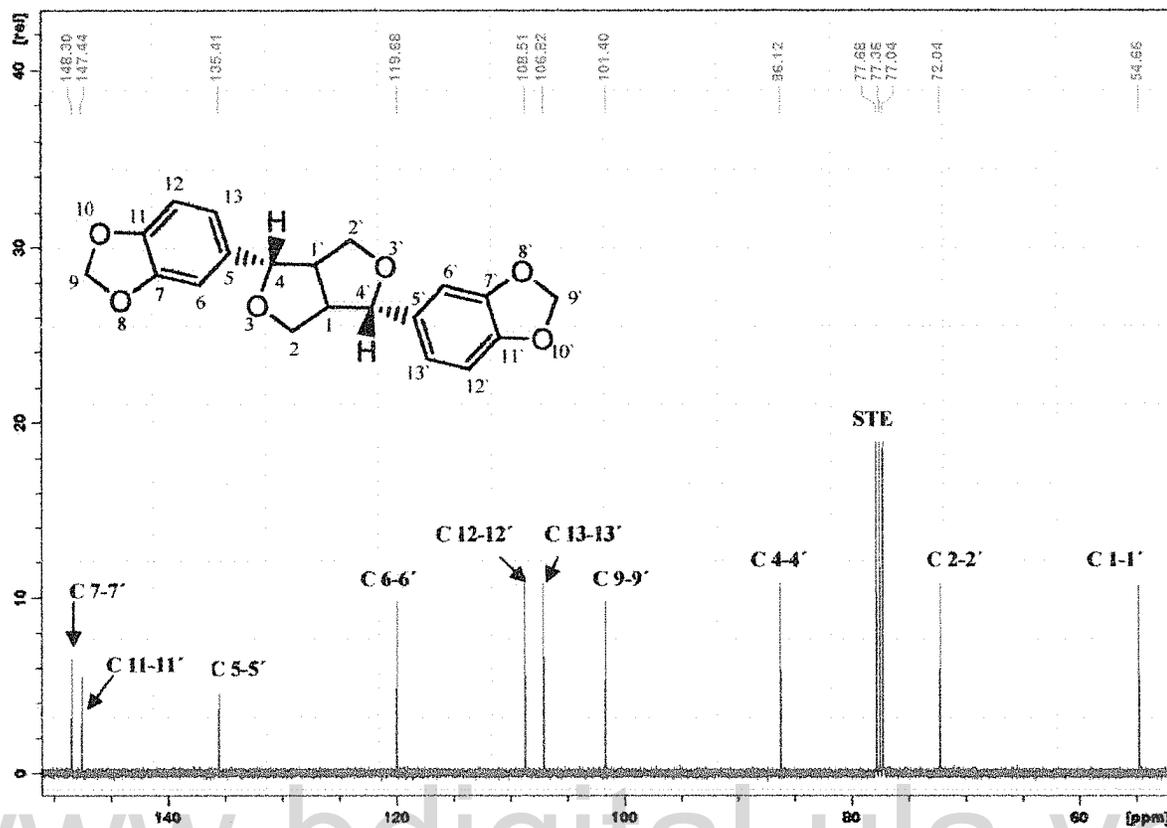


Figura 19. Sesamina, espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 100 MHz)

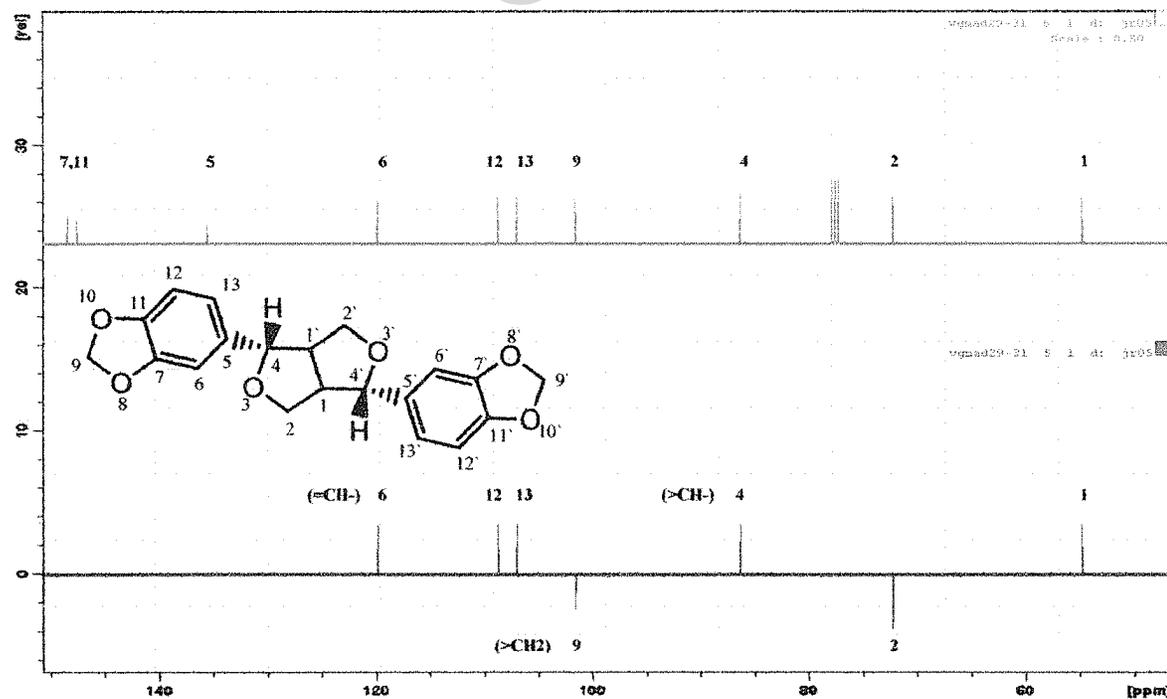


Figura 20. Sesamina, espectro DEPT 135° (CDCl₃, 100 MHz)

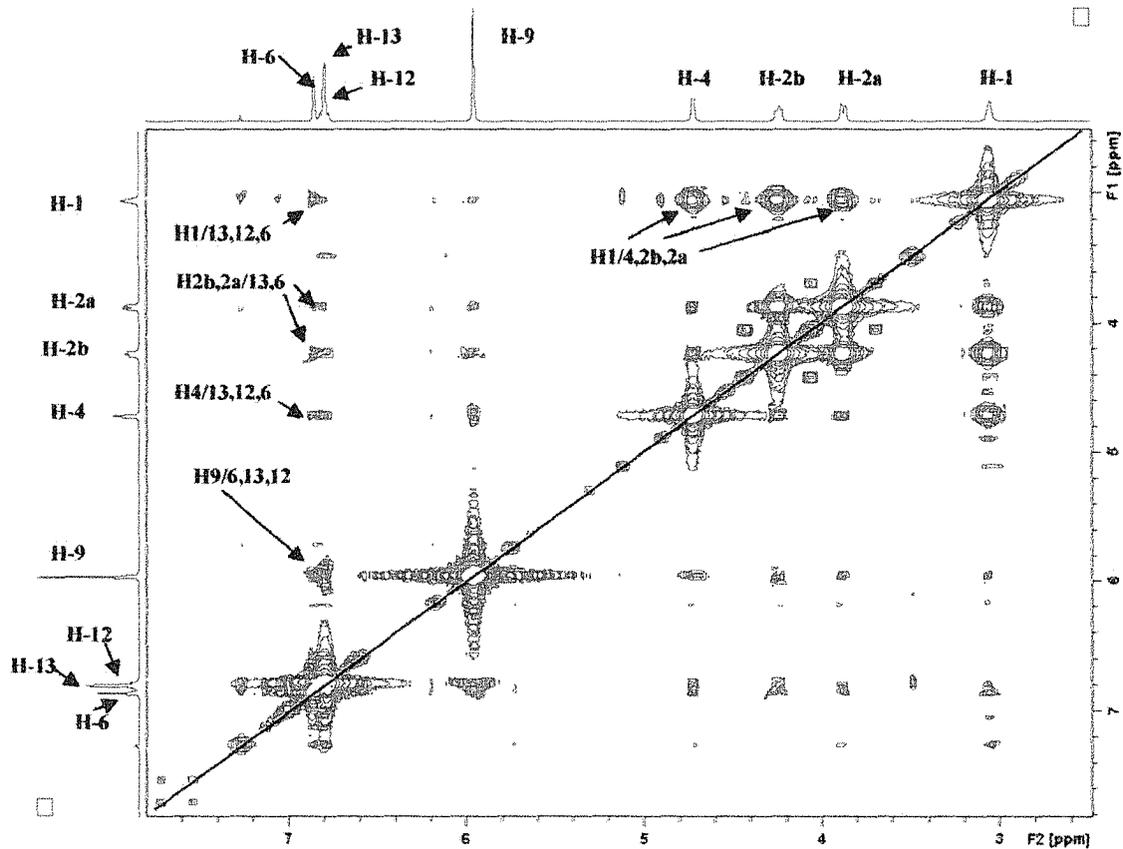


Figura 21. Sesamina, espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)

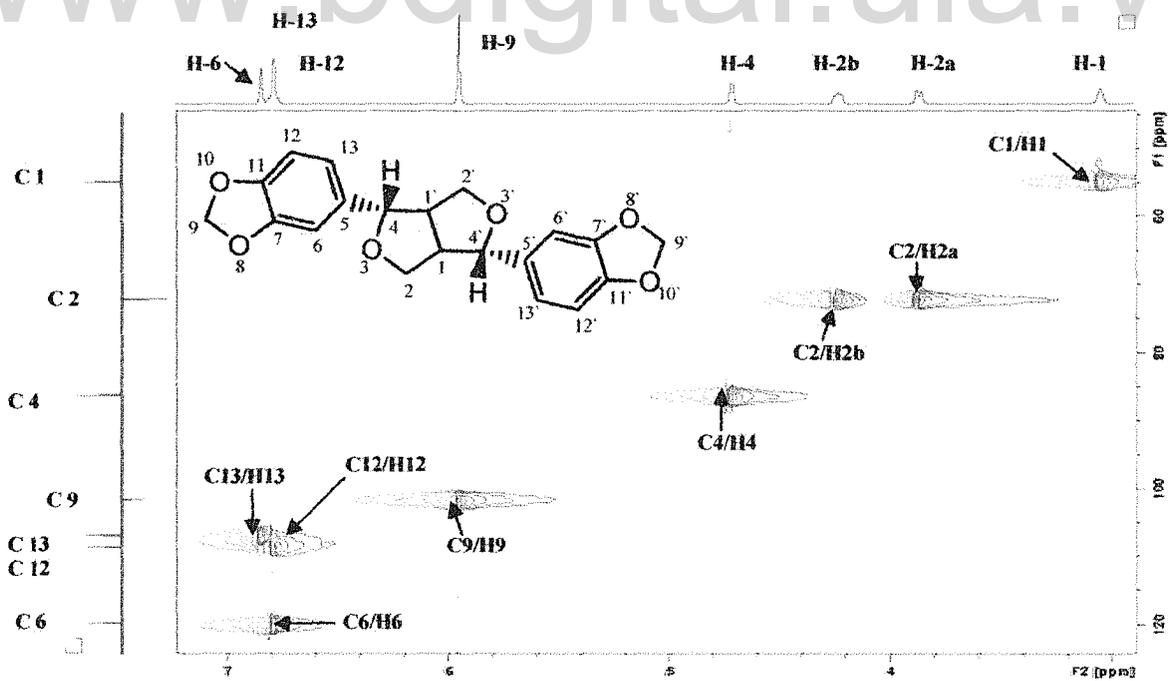


Figura 22. Sesamina, espectro HMQC (CDCl_3)

Tabla 29. Desplazamientos químicos de Sesamina RMN¹H y RMN¹³C

Nº	H (δ)	C (ppm)	Multiplicidad	Tipo de C	C (ppm)*	H (δ)**	C (ppm)**
1	3,09	54,66	<i>s</i>	>CH-	54,24	3,06	54,5
2	3,85/4,23	72,04	<i>dd</i> (8, 9 Hz)	>CH ₂	71,55	3,67/4,23	71,8
3	-	-	-	-	-	-	-
4	4,72	86,12	<i>d</i> (3 Hz)	>CH-	85,61	4,71	85,9
5	-	135,41	-	>C=	134,93	-	135,2
6	6,81	119,68	<i>s</i>	-CH=	119,13	6,85	119,5
7	-	148,30	-	>C=	147,74	-	148,1
8	-	-	-	-	-	-	-
9	5,95	101,4	<i>s</i>	O-CH ₂ -O	100,89	5,94	101,2
10	-	-	-	-	-	-	-
11	-	147,44	-	>C=	146,86	-	147,2
12	6,77	108,51	<i>d</i> (8,1 Hz)	-CH=	107,96	6,79	108,3
13	6,79	106,82	<i>d</i> (9,5 Hz)	-CH=	106,32	6,81	106,6

* Datos para el compuesto Sesamina (Pelter *et al.*, 1979)

** Datos para el compuesto Sesamina (Salas, 2006)

6.2. Compuesto EMAM 58. {1,8-dihidroxi-3-metil-7-(4'-metil-1-pentenil)-6-metoxi-antraquinona} Vismiaquinona.

De la columna IV, en las fracciones eluidas con la mezcla de solventes acetato/metanol 80:20, se obtuvo un sólido que al ser cristalizado con metanol proporcionó una sustancia de color anaranjado (53 mg), con un punto de fusión de 193-195 °C. Este compuesto se observó como una sola mancha al ser analizado por cromatografía de capa fina, recorrida con la mezcla acetato/metanol 50:50.

El espectro RMN¹H (figuras 23), muestra dos singletes (*s*) a campo bajo, uno a δ 12,94 ppm y otro a δ 12,09 ppm, ambos integran para un protón correspondiente a grupos OH que por la posición donde se observan pudieran estar ubicados sobre anillos aromáticos. En el rango comprendido entre δ 7,59-6,62 ppm se encuentran cinco señales que integran para un protón cada una, a δ 7,59 ppm (*s*, H₄), δ 7,39 ppm (*s*, H₅), δ 7,05 ppm (*s*, H₂), δ 6,94 ppm (*dd*, *J*= 7,1 y 7,2 Hz, H₂) y δ 6,66 ppm (*d*, *J*= 17,9 Hz, H₁), (figura 24).

A campo más alto se observan las señales correspondientes a tres grupos metilos a δ 4,03 ppm (s, H₁₆, 3H), δ 2,44 ppm (s, H₁₅, 3H) y δ 1,14 ppm (d, $J= 16,7$ Hz, H₄ y H₅, 6H) mientras que a δ 2,45 ppm se observa un multiplete que integra para un protón correspondiente al H₃.

El espectro RMN¹³C (Figuras 25 y 26) muestra la presencia de veintiún señales correspondientes a 21 átomos de carbono en la molécula, entre los cuales se encuentran once carbonos cuaternarios a 192,16 ppm (C₉); 183,72 ppm (C₁₀); 162,81 ppm (C₁); 162,42 ppm (C₆); 162,41 ppm (C₈); 148,80 ppm (C₃); 133,56 ppm (C₁₄); 132,41 ppm (C₁₂); 120,37 ppm (C₇); 114,07 ppm (C₁₁) y 110,00 ppm (C₁₃), seis señales para carbonos terciarios a 147,48 ppm (C₂); 124,73 ppm (C₂); 121,43 ppm (C₄); 116,16 ppm (C₁); 103,72 ppm (C₅) y 33,73 ppm (C₃). Así mismo se observan cuatro señales correspondientes a carbonos primarios a 56,64 ppm (C₁₆), 22,80 ppm (C₄ y C₅) y 22,48 ppm (C₁₅).

Al comparar los datos espectrales obtenidos en el presente estudio (tabla 30) con los reportados por (Álvarez, 2008 y Vizcaya, 2013) se observan similitudes en las señales, por lo que se puede inferir que se trata de una antraquinona conocida como Vismiaquinona.

Las antraquinonas (Vismiaquinona) normalmente se observa con un color amarillo claro pero dependiendo de la cantidad de sustituciones presentes en los anillos especialmente en las posiciones alfa a los grupos carbonilos, se produce un incremento en la intensidad del color. Cuando las posiciones 1 y 8 se encuentran ocupadas por grupos hidroxílicos, los cuales poseen electrones no compartidos, estos le confieren a la molécula una coloración naranja oscuro (González *et al.*, 1972).

La Vismiaquinona ha sido aislada anteriormente del género *Vismia*, de donde proviene su nombre común, encontrándose en varias de sus especie, tales como: *V. reirhardtiana* (Goncalves y Mors, 1981), *V. japurensis* (Miraglia *et al.*, 1981), *V. martiana* (Nagen y Farias de Jesús, 1990), *V. parviflora* (Nagen y Faustino, 1997), *V. laurentii* (Nguemeving *et al.*, 2006) y *V. baccifera* donde le reportaron además propiedades antimicrobianas (Hussein *et al.*, 2003; Salas *et al.*, 2007).

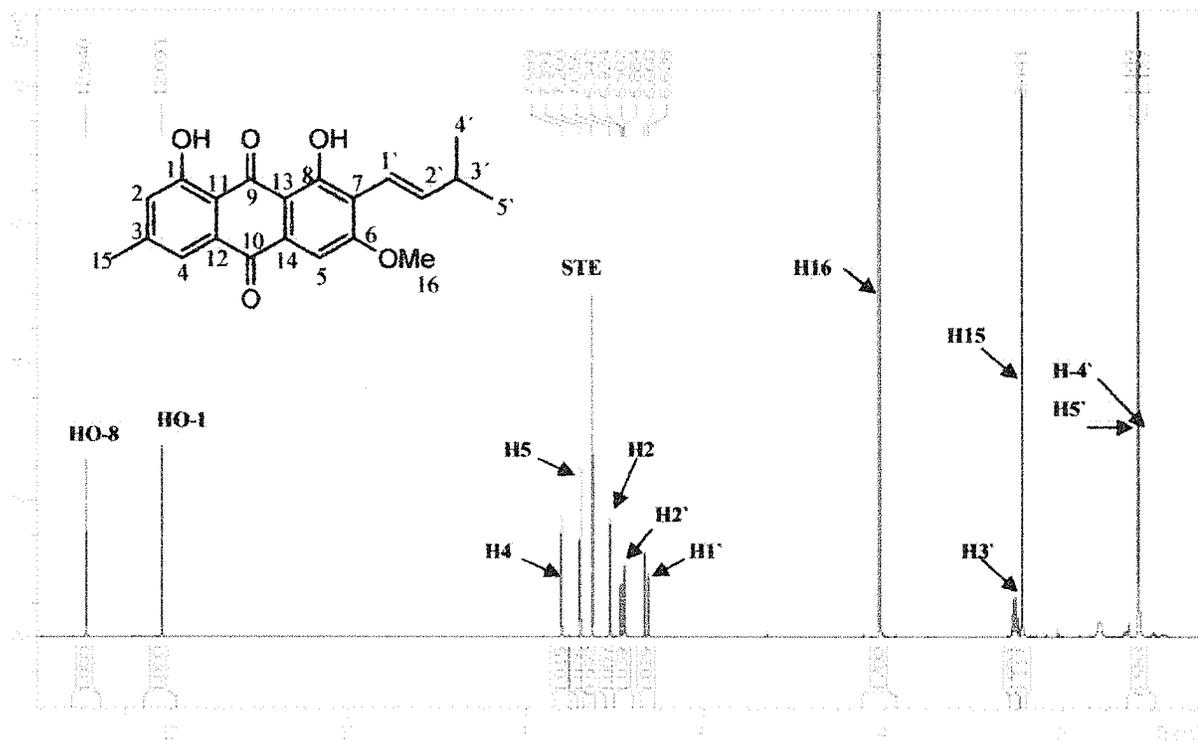


Figura 23. Vismiaquinona, espectro de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz)

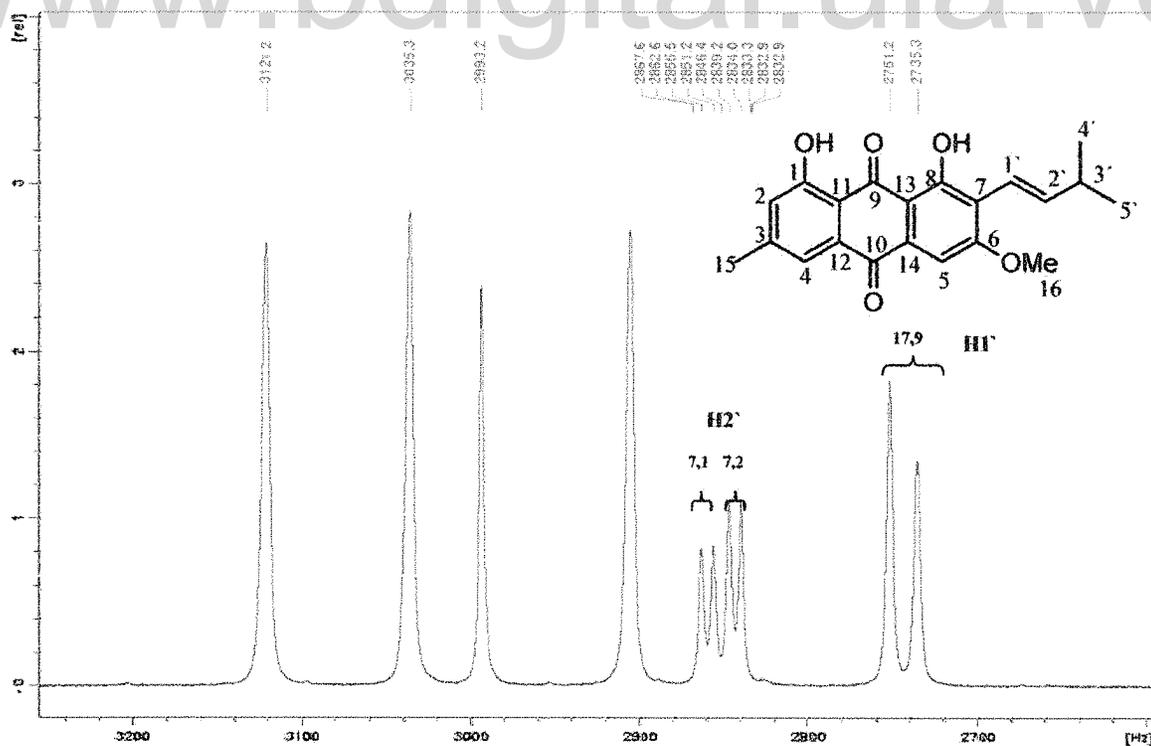


Figura 24. Vismiaquinona, RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz) (Ampliación)

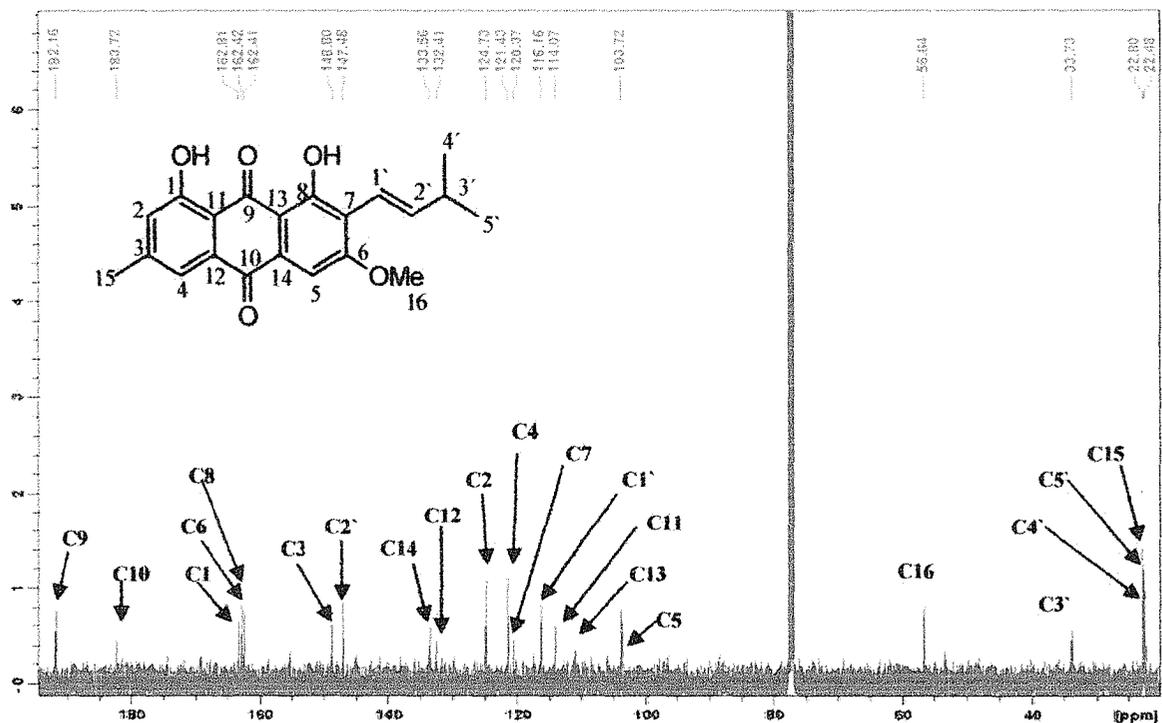


Figura 25. Vismiaquinona, espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 100 MHz)

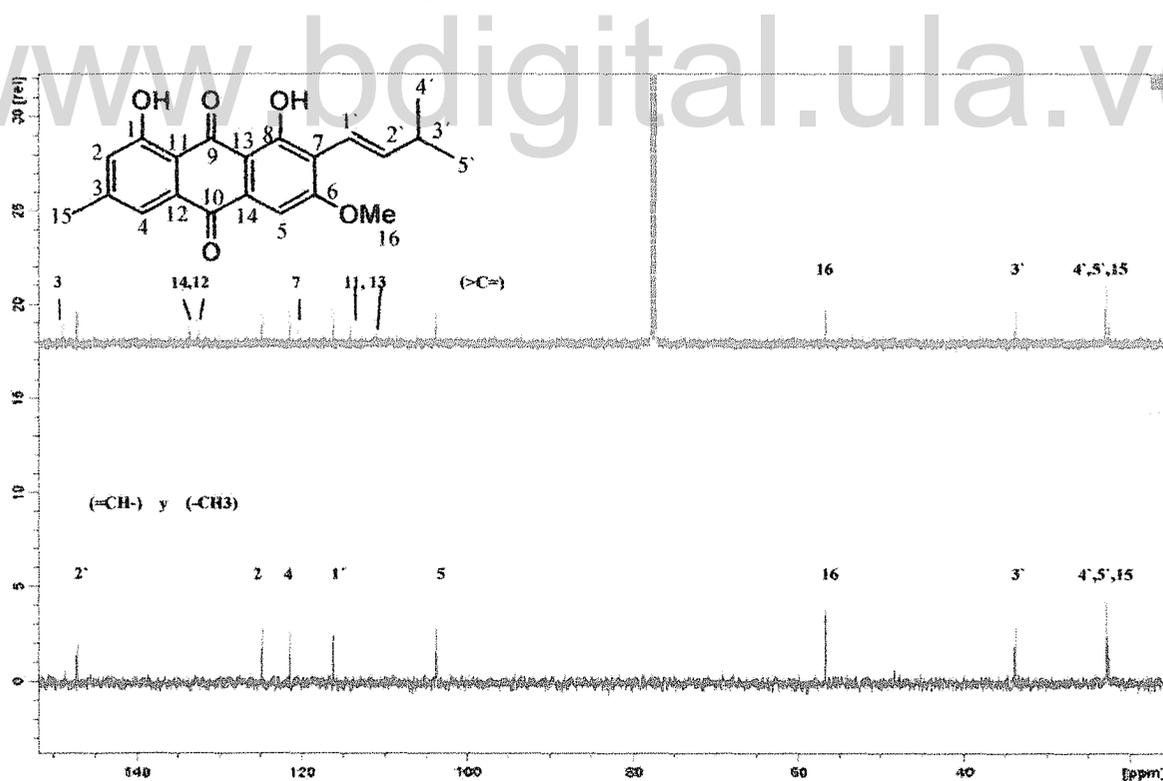


Figura 26. Vismiaquinona, espectro DEPT 135° (CDCl₃, 100 MHz)

Tabla 30. Desplazamientos químicos de la Vismiaquinona, RMN-¹H

Nº	H (δ)	C (ppm)	Multip.	Tipo de C	H (δ)*	C (ppm)*	H (δ)**	C (ppm)**
1	12,09	162,81	s	≥C-OH	12,06	163,10	12,10	163,33
2	7,056	124,73	s	=CH-	7,00	124,80	7,07	124,73
3	-	148,80	-	>C=	-	148,75	-	148,90
4	7,59	121,48	s	=CH-	7,55	121,43	7,61	121,50
5	7,39	103,71	s	=CH-	7,46	103,72	7,41	103,00
6	-	162,42	-	>C=	-	162,81	-	162,90
7	-	120,37	-	>C=	-	120,31	-	120,00
8	12,94	162,41	s	≥C-OH	12,89	162,42	12,95	162,50
9	-	192,16	-	>C=O	-	191,73	-	191,11
10	-	183,72	-	>C=O	-	182,16	-	182,60
11	-	114,01	-	>C=	-	114,07	-	110,4
12	-	132,47	-	>C=	-	132,41	-	131,90
13	-	110,00	-	>C=	-	110,80	-	110,30
14	-	133,58	-	>C=	-	133,56	-	133,00
15	2,44	22,48	s	-CH ₃	2,38	22,48	2,42	22,60
16	4,03	56,67	s	O-CH ₃	3,98	56,64	4,04	56,70
1'	6,66	116,18	d (17,9 Hz)	=CH-	6,59	116,16	6,66	116,20
2'	6,94	147,48	dd(7,1-7,2)	=CH-	6,81	147,08	6,90	147,20
3'	2,45	33,78	m	>CH-	2,40	33,73	2,48	33,80
4' y 5'	1,44	22,80	d (16,7 Hz)	-CH ₃	1,07	22,80	1,14	22,82

*Datos para el compuesto Vismiaquinona (Álvarez 2008)

** Datos para el compuesto Vismiaquinona (Vizcaya 2013)

6.3. Compuesto EMDA 11. Friedelan-3-ona (Friedelina).

De la columna II, en las fracciones eluidas con la mezcla de solventes hexano/diclorometano 70:30, se obtuvo un sólido que al ser recristalizado con metanol proporcionó una sustancia color blanco (53 mg), con punto de fusión 298-301 °C. Este compuesto se observó como una sola mancha al ser analizado por cromatografía de capa fina recorrida con la mezcla hexano/diclorometano 50:50.

En el espectro de RMN¹H (Figura 27) se detecta un multiplete a δ 2,38 ppm, que integra para un protón correspondiente al H₄ y a δ 2,37 ppm se observa un multiplete que integra para dos protones correspondiente al H₂. En el rango comprendido entre δ 1,80-1,65 ppm se encuentran las señales correspondientes a los protones de posibles grupos metinos: H₈, H₁₀ y H₁₈. Entre δ 1,60-1,40 ppm se observan una serie de picos que corresponden a los protones de 10 grupos metilenos: H₁, H₆, H₇, H₁₁, H₁₂, H₁₅, H₁₆, H₁₉, H₂₁, H₂₂, y entre δ 1,20-0,40 ppm se observan las señales que corresponden a los ocho metilos presentes en la

molécula a δ 1,17 ppm (H₂₃), δ 1,04 ppm (H₂₇), δ 1,00 ppm (H₃₀), δ 0,99 ppm (H₂₆), δ 0,95 ppm (H₂₉), δ 0,87 ppm (H₂₅), δ 0,83 ppm (H₂₈), δ 0,73 ppm (H₂₄).

Los espectros RMN¹³C (Figura 28) y DEPT 135° (Figura 29) muestran la presencia de treinta átomos de carbono en la molécula pudiendo tratarse de un triterpeno. A campo bajo se observa una señal muy desapantallada a 213,35 ppm (C₃), que es indicativa de la presencia de un grupo cetónico. Seis señales que se aprecian como carbonos cuaternarios se encuentran a 42,98 ppm (C₅); 40,13 ppm (C₁₃); 38,44 ppm (C₁₄); 37,13 ppm (C₉); 30,46 ppm (C₁₇) y 28,62 ppm (C₂₀). Once señales de carbonos secundarios, cuyas señales se encuentran invertidas en el DEPT 135°, se observan a 41,69 ppm (C₂); 41,37 ppm (C₆); 39,77 ppm (C₂₂); 36,86 ppm (C₁₆); 35,69 ppm (C₁₁); 35,63 ppm (C₁₉); 33,87 ppm (C₂₁); 32,71 ppm (C₁₅); 30,80 ppm (C₁₂); 22,00 ppm (C₁) y 18,59 ppm (C₇), respectivamente. Cuatro señales para carbonos terciarios se pueden evidenciar a 59,00 ppm (C₁₀), 58,85 ppm (C₄), 53,37 ppm (C₈) y 43,36 ppm (C₁₈). Por último pueden apreciarse ocho señales correspondientes a carbonos primarios (CH₃) a 35,49 ppm (C₂₉); 32,60 ppm (C₂₈); 32,55 ppm (C₃₀); 20,60 ppm (C₂₆); 19,01 ppm (C₂₇); 18,19 ppm (C₂₅); 16,00 ppm (C₂₄) y 7,43 ppm (C₂₃).

Al comparar los datos espectrales obtenidos en el presente estudio (tabla 20) con los reportados por (Salas *et al.*, 2006 y Vizcaya, 2013) se observan similitudes en las señales, por lo que se puede inferir que el compuesto EMDA 11 se trata de un núcleo triterpeno pentacíclico conocido como friedelina. Este metabolito secundario fue aislado por primera vez de *Harungana madagascariensis* Lam. (Corey y Ursprung, 1956) y ha sido reportado en las especies *V. martiana* (Nagen y Farias de Jesus, 1990), *V. parviflora* (Nagen y Faustino, 1997), *V. japurensis* (Miraglia *et al.*, 1981), *V. laurentii* (Kuede *et al.*, 2007) y *V. rubescens* (Tamokou *et al.*, 2009). A este compuesto se le ha demostrado actividad antiinflamatoria, anticonvulsivante, fungistática (Lastra y Ponce de León, 2001); antiulcerosa reduciendo la secreción gástrica hasta en un 50 % (Oliveira, 1992) y antibacteriana (Salas *et al.*, 2007).

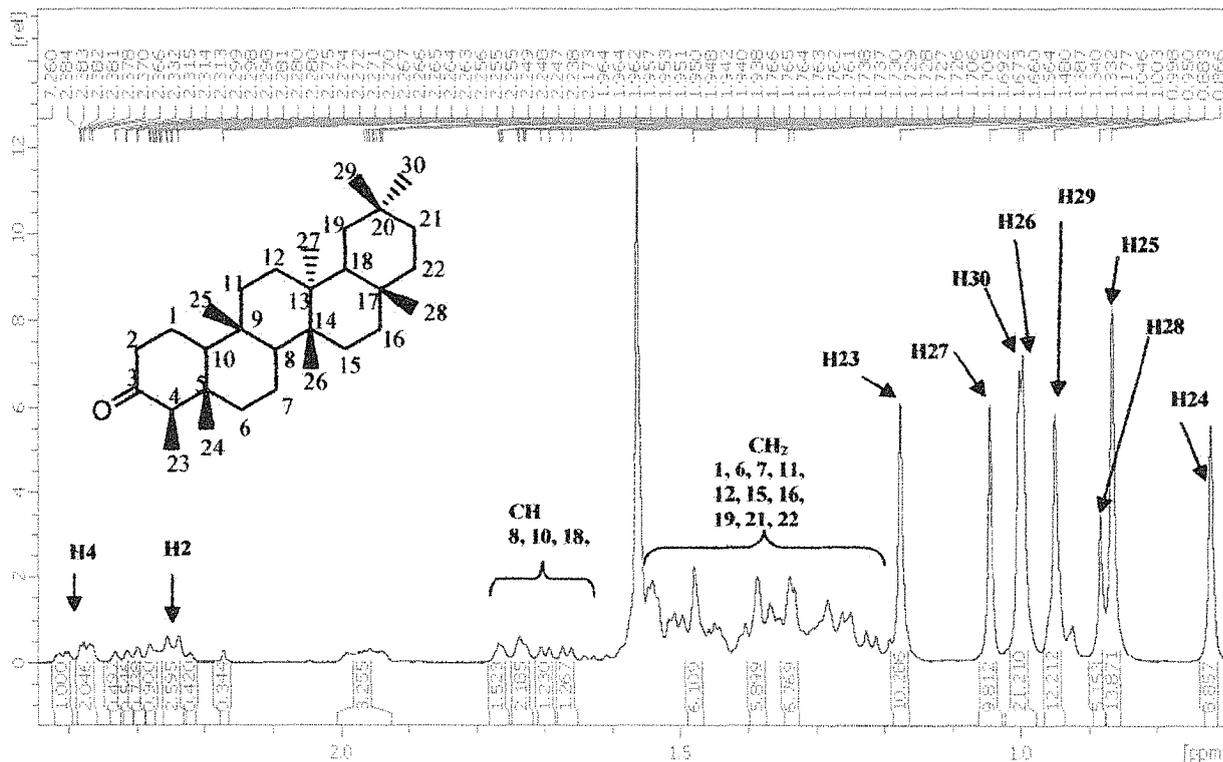


Figura 27. Friedelina, espectro de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz)

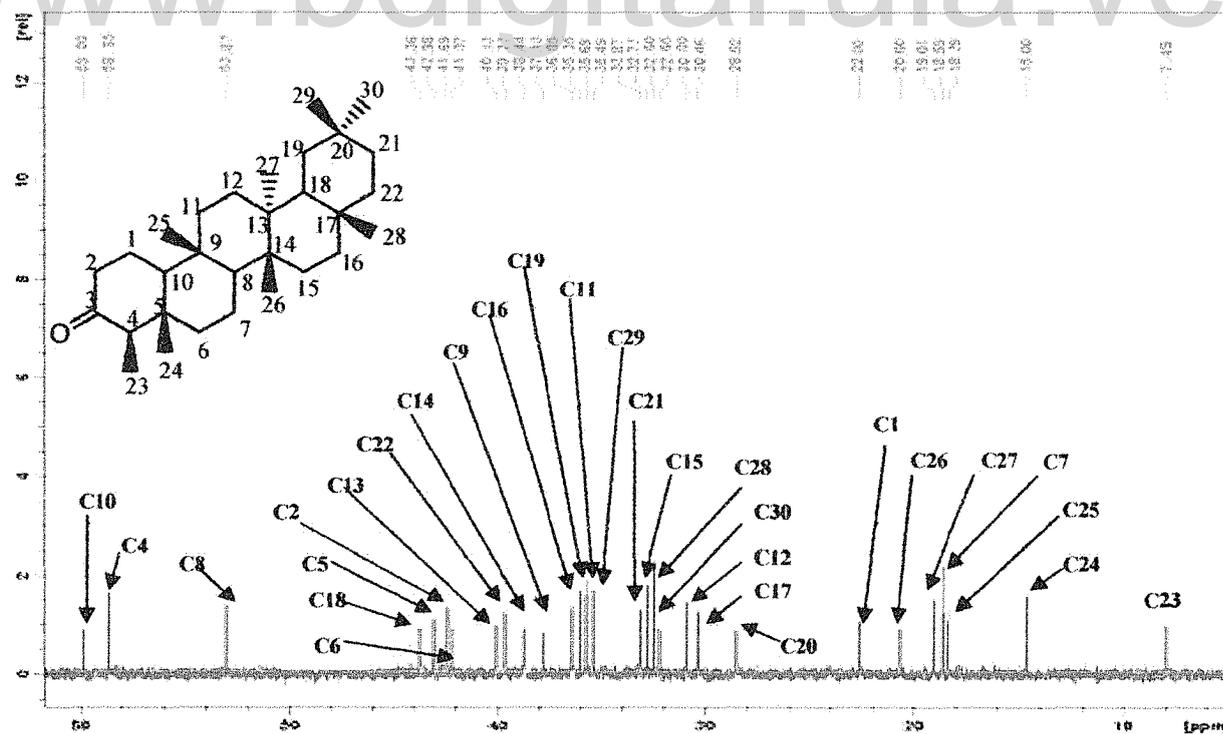


Figura 28. Friedelina, espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 100 MHz)

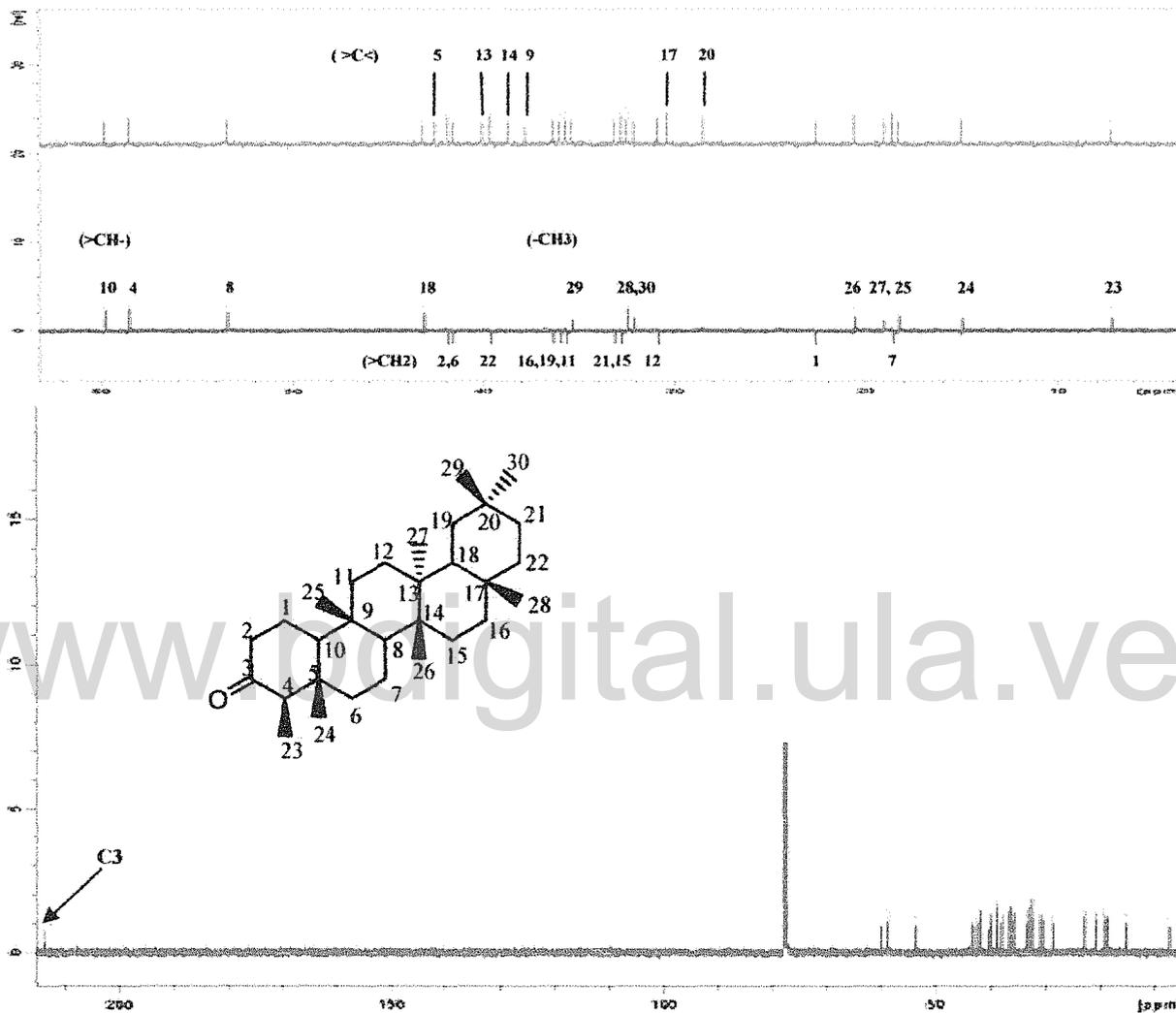


Figura 29. Friedelina, espectro DEPT 135° y RMN¹³C (CDCl₃, 100 MHz)

Tabla 31. Desplazamientos químicos de la Friedelina RMN¹H y RMN-¹³C.

Nº	H (δ)	C (ppm)	Multip.	Tipo de C	H (δ)*	C (ppm)*	H (δ)**	C (ppm)**
1	1,4-1,6	22,00	<i>m</i>	>CH ₂	1,65-1,95	22,28	-	22,63
2	2,37	41,69	<i>m</i>	>CH ₂	2,31-2,39	41,53	2,38	41,87
3	-	213,35	-	>C=O	-	213,2	-	213,53
4	2,38	58,85	<i>m</i>	>CH-	2,25	58,24	2,26	58,58
5	-	42,98	-	>C<	-	42,14	-	42,49
6	1,3-1,5	41,37	<i>m</i>	>CH ₂	1,29-1,75	41,31	-	41,65
7	1,4-1,6	18,50	<i>m</i>	>CH ₂	1,36-1,49	18,24	-	18,59
8	1,70	53,37	<i>m</i>	>CH-	1,39	53,11	-	53,46
9	-	37,13	-	>C<	-	37,46	-	37,80
10	1,6	59,00	<i>m</i>	>CH-	1,53	59,50	-	59,84
11	1,3-1,5	35,69	<i>m</i>	>CH ₂	1,26-1,46	35,64	-	35,98
12	1,40	30,80	<i>m</i>	>CH ₂	1,33	30,51	-	30,85
13	-	40,13	-	>C<	-	39,71	-	40,05
14	-	38,44	-	>C<	-	38,31	-	38,65
15	1,3-1,6	32,71	<i>m</i>	>CH ₂	1,30-1,50	32,43	-	32,77
16	1,3-1,6	36,86	<i>m</i>	>CH ₂	1,40-1,52	36,02	-	36,36
17	-	30,46	-	>C<	-	30,00	-	30,35
18	1,60	43,36	<i>m</i>	>CH-	1,56	42,82	-	43,15
19	1,2-1,3	35,63	<i>m</i>	>CH ₂	1,18-1,40	35,35	-	35,69
20	-	28,62	-	>C<	-	28,20	-	28,52
21	1,2-1,5	33,87	<i>m</i>	>CH ₂	1,25-1,45	32,10	-	33,13
22	1,2-1,5	39,77	<i>m</i>	>CH ₂	0,92-1,51	39,30	-	39,60
23	0,83	7,49	<i>s</i>	-CH ₃	0,85	6,81	0,88	7,16
24	0,73	16,00	<i>s</i>	-CH ₃	0,70	14,70	0,72	15,00
25	0,87	18,19	<i>s</i>	-CH ₃	0,87	17,94	0,86	18,29
26	0,99	20,60	<i>s</i>	-CH ₃	1,04	20,25	1,00	20,60
27	1,04	19,01	<i>s</i>	-CH ₃	1,16	18,65	1,04	19,01
28	1,17	32,60	<i>s</i>	-CH ₃	1,18	32,09	1,27	32,44
29	0,95	35,49	<i>s</i>	-CH ₃	0,93	35,01	0,95	35,37
30	1,00	32,55	<i>s</i>	-CH ₃	0,96	31,78	1,00	32,13

* Datos para el compuesto Friedelina (Salas, 2006)

** Datos para el compuesto Friedelina (Vizcaya, 2013)

6.4. Compuesto EMDA 8. Friedelano

De la columna II, en las fracciones eluidas con la mezcla de solventes hexano/diclorometano 50:50, se obtuvo un sólido que al ser cristalizado con metanol proporcionó una sustancia de color blanco (48 mg), con punto de fusión 270-275 °C. Este compuesto se observó como una sola mancha al ser analizado por cromatografía de capa fina recorrida con la mezcla 40:60 de hexano/diclorometano.

El espectro de RMN¹H (Figura 30 y 31) muestra un multiplete a δ 2,36 ppm, que integra para un protón correspondiente al H₄ y a δ 2,27 ppm se observa otro multiplete que integra para dos protones correspondiente al H₂. En el rango comprendido entre δ 1,80-1,62 ppm se encuentran las señales correspondiente a los grupos metino H₈, H₁₀ y H₁₈. Entre δ 1,62-1,20 ppm se observan las señales derivadas de los grupos metilenos: H₁, H₃, H₆, H₇, H₁₁, H₁₂, H₁₅, H₁₆, H₁₉, H₂₁, H₂₂, y entre δ 1,20-0,70 ppm se aprecian las señales singulete correspondientes a los grupos CH₃ a δ 1,16 ppm (H₂₃); δ 1,01 ppm (H₂₇); δ 0,99 ppm (H₃₀); δ 0,99 ppm (H₂₆); δ 0,96 ppm (H₂₉); δ 0,89 ppm (H₂₅); δ 0,89 ppm (H₂₈); δ 0,81 ppm (H₂₄).

Los espectros RMN¹³C (Figura 32 y 33) y DEPT 135° (Figura 34) revelan la existencia de treinta átomos de carbono en la molécula confirmando la presencia de una molécula de núcleo triterpeno. Seis carbonos cuaternarios se aprecian a 42,29 ppm (C₅); 40,13 ppm (C₁₃); 38,44 ppm (C₁₄); 37,59 ppm (C₉); 30,14 ppm (C₁₇) y 28,31 ppm (C₂₀). Doce señales para carbonos secundarios que se observan en posición invertida en el DEPT 135° aparecen a 41,68 ppm (C₂); 41,43 ppm (C₆); 39,40 ppm (C₂₂); 36,15 ppm (C₁₆); 35,77 ppm (C₁₉); 35,49 ppm (C₁₁); 32,91 ppm (C₂₁); 32,56 ppm (C₁₅); 30,65 ppm (C₁₂); 29,85 ppm (C₃); 22,43 ppm (C₁) y 18,38 ppm (C₇), respectivamente. Posteriormente, cuatro señales correspondientes a carbonos terciarios se aprecian a 59,62 ppm (C₁₀), 58,37 ppm (C₄), 53,25 ppm (C₈) y 42,94 ppm (C₁₈). Por último se evidencian ocho señales correspondientes a los carbonos primarios en 35,17 ppm (C₂₉), 32,23 ppm (C₂₈), 31,92 ppm (C₃₀), 20,40 ppm (C₂₆), 18,81 ppm (C₂₇), 18,09 ppm (C₂₅), 14,80 ppm (C₂₄) y 6,97 ppm (C₂₃). Al comparar los espectros RMN¹³C para los compuestos EMDA 11 y EMDA 8 se puede detectar la ausencia de la señal en 213,53 ppm en EMDA 8, indicativo que este compuesto no posee grupo carbonilo, además se aprecia una señal a 29,85 ppm (C₃) que no está presente en EMDA 11 lo que hace inferir que se trata de compuestos con el mismo núcleo pero en el caso de EMDA 8 no presenta oxidación en el C₃.

Además, la información proporcionada por el espectro bidimensional COSY 90° (Figura 35 y 36) confirma las conectividades de los subgrupos estructurales de la molécula donde se evidencian entre δ 1,80 y 1,62 ppm los satélites de las señales de los grupos metinos. Entre δ 1,62-1,20 ppm se observa un conjunto de señales satélites que corresponde

a los metilenos y entre δ 1,20-0,70 ppm se observan las señales satélites de los grupos metilos.

Al comparar los datos espectrales obtenidos en el presente estudio (tabla 32) con los reportados por (Mahato y Kundu 1994; estructuras 171 y 172, pag 1537) se observan similitudes en las señales exceptuando por las posiciones donde se encuentran grupos OH, por lo que se puede inferir que se trata de un compuesto de núcleo triterpeno pentacíclico conocido como Friedelano. Este metabolito secundario es poco frecuente en la naturaleza debido a la característica esencial de ciclación en estos compuestos, ya que se requiere de la formación del epóxido de escualeno el cual sólo se produce con oxígeno molecular y en presencia de NADPH. De acuerdo a la bibliografía consultada la posición mas susceptible de oxidarse en el escualeno es C₃, dando como resultado procesos oxidativos-reductivos posteriores a la ciclación, encontrándose con mayor frecuencia los procesos oxidativos que los reductivos (Marcano y Hasegawa, 2002).

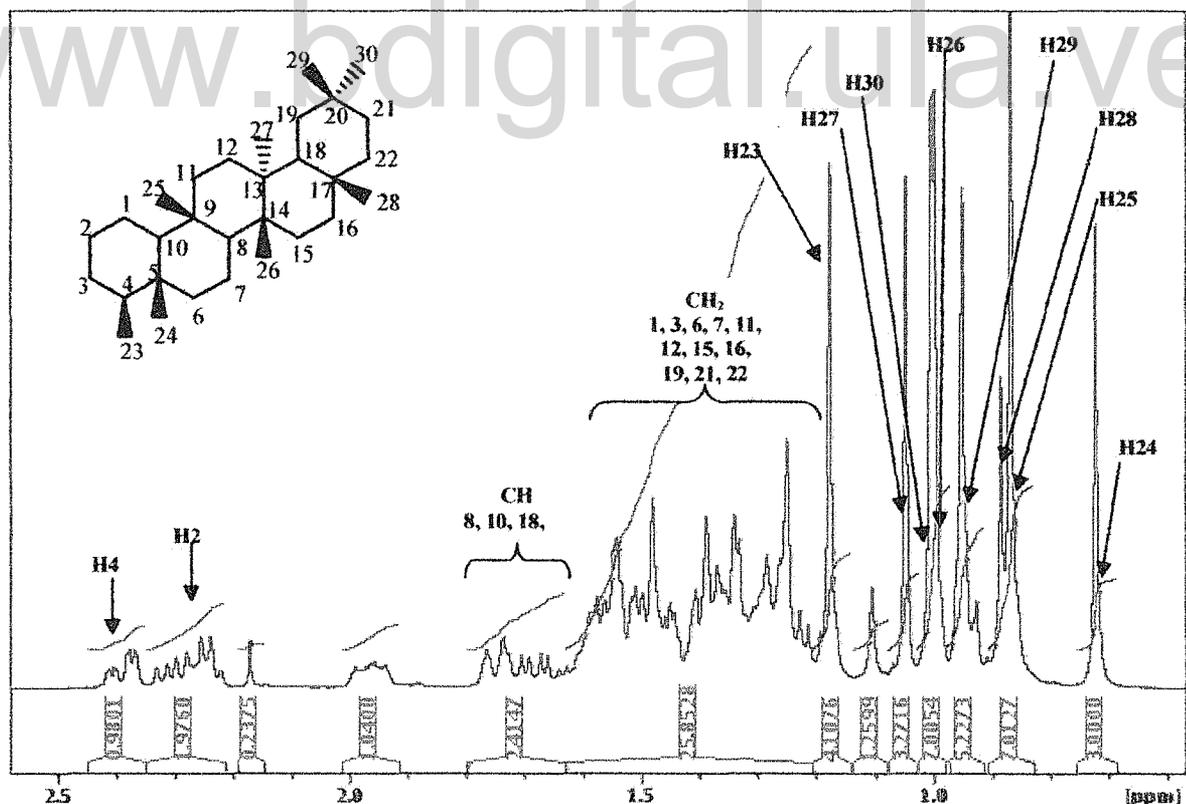


Figura 30. Friedelano, espectro de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz) (Integrales)

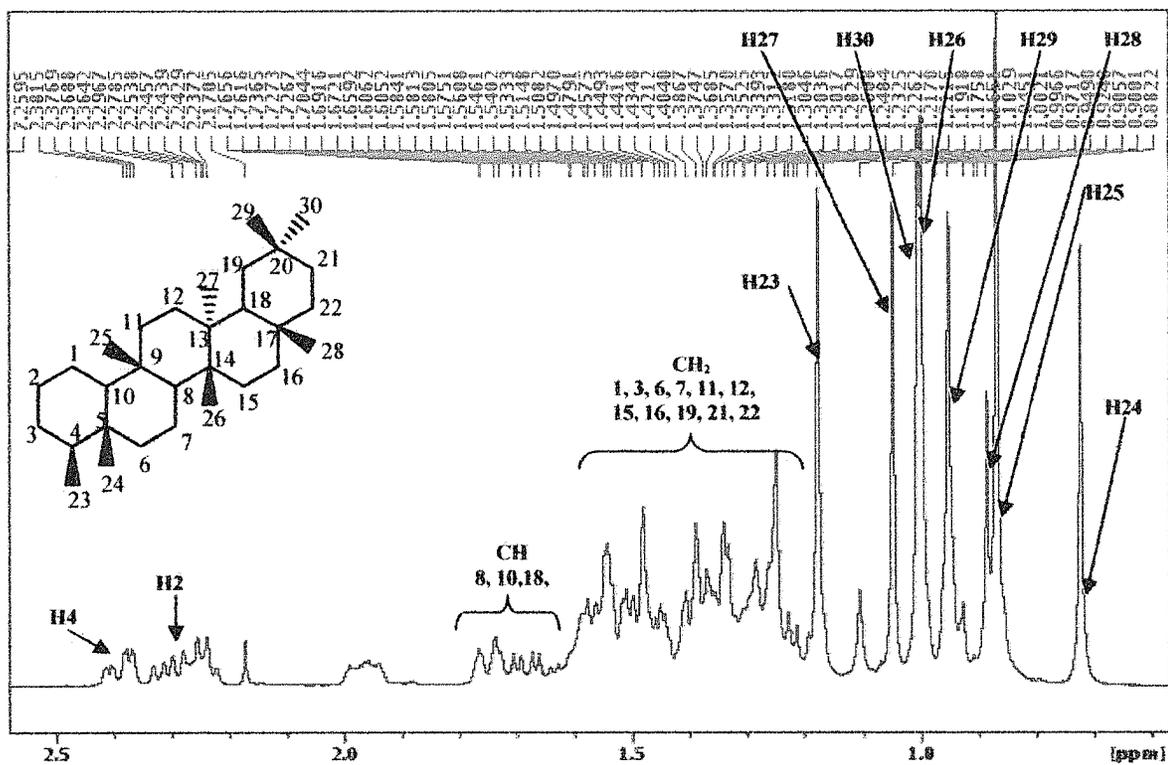


Figura 31. Friedelano, espectro de RMN^1H (CDCl_3 , 400 MHz)

www.bdigital.ula.ve

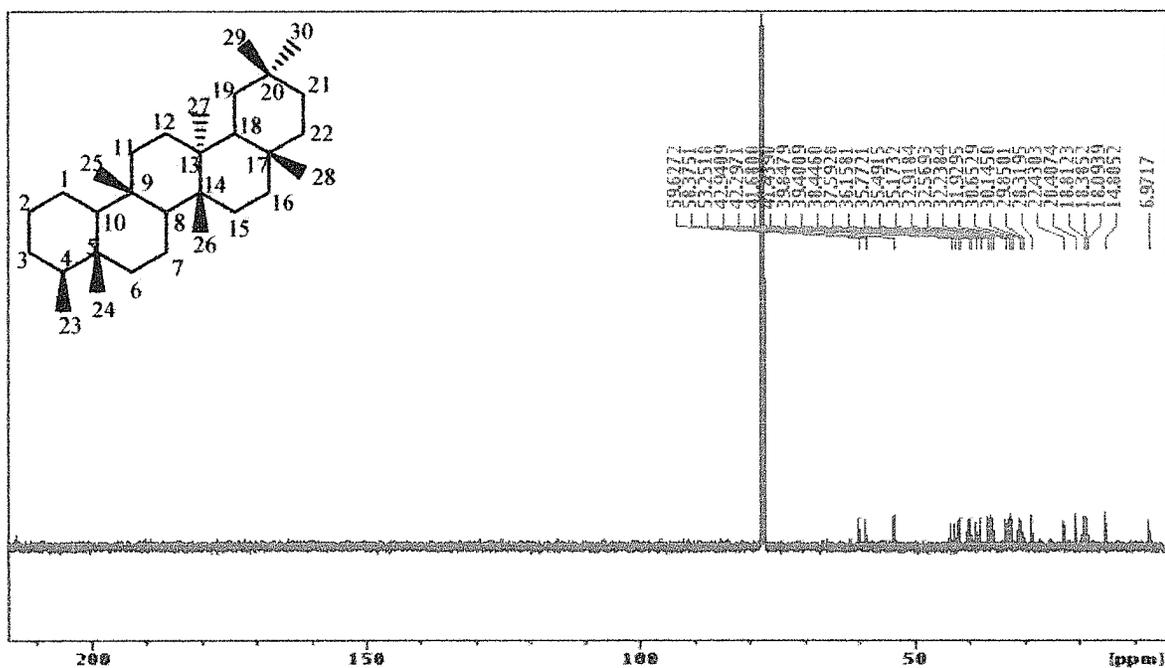
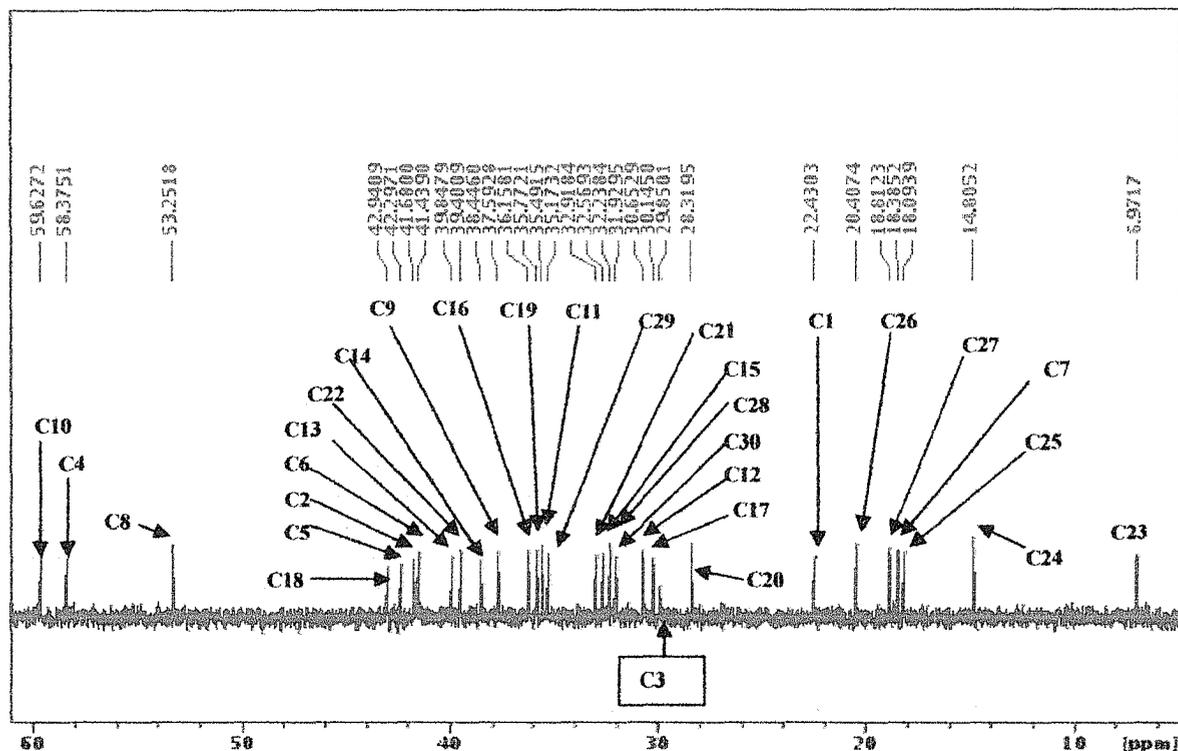


Figura 32. Friedelano, espectro de RMN^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)



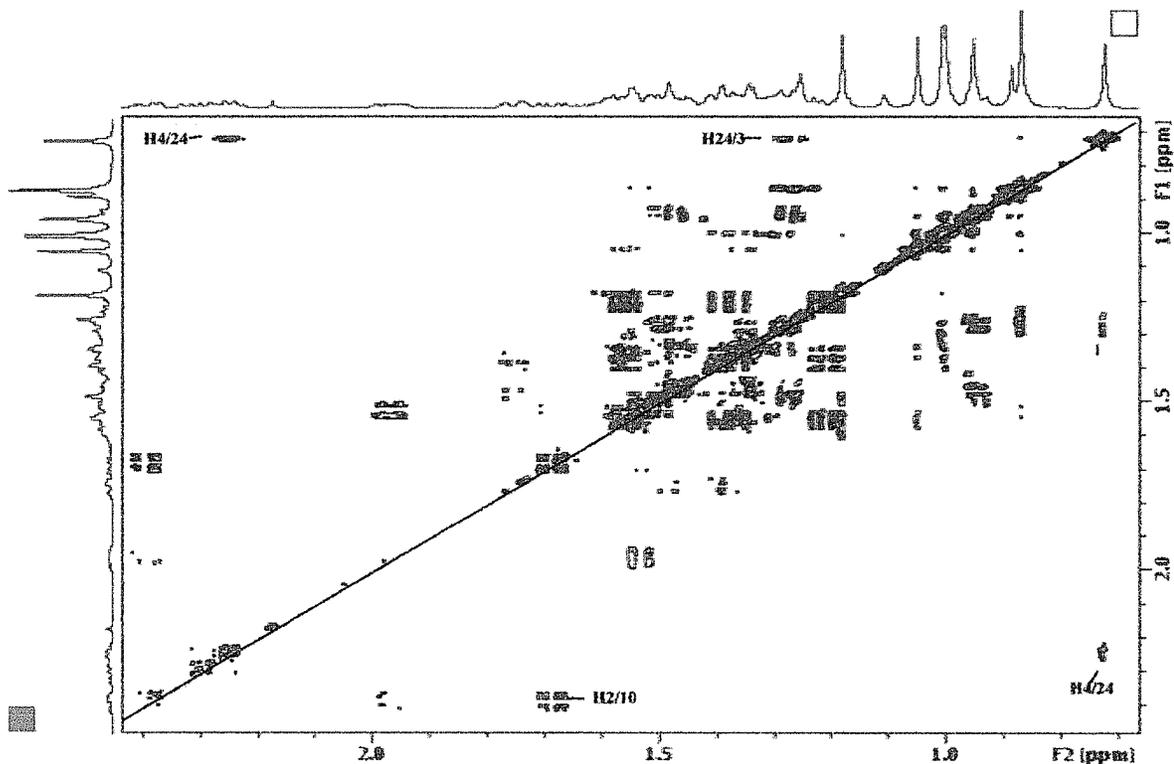


Figura 35. Friedelano, espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ - COSY (CDCl_3)

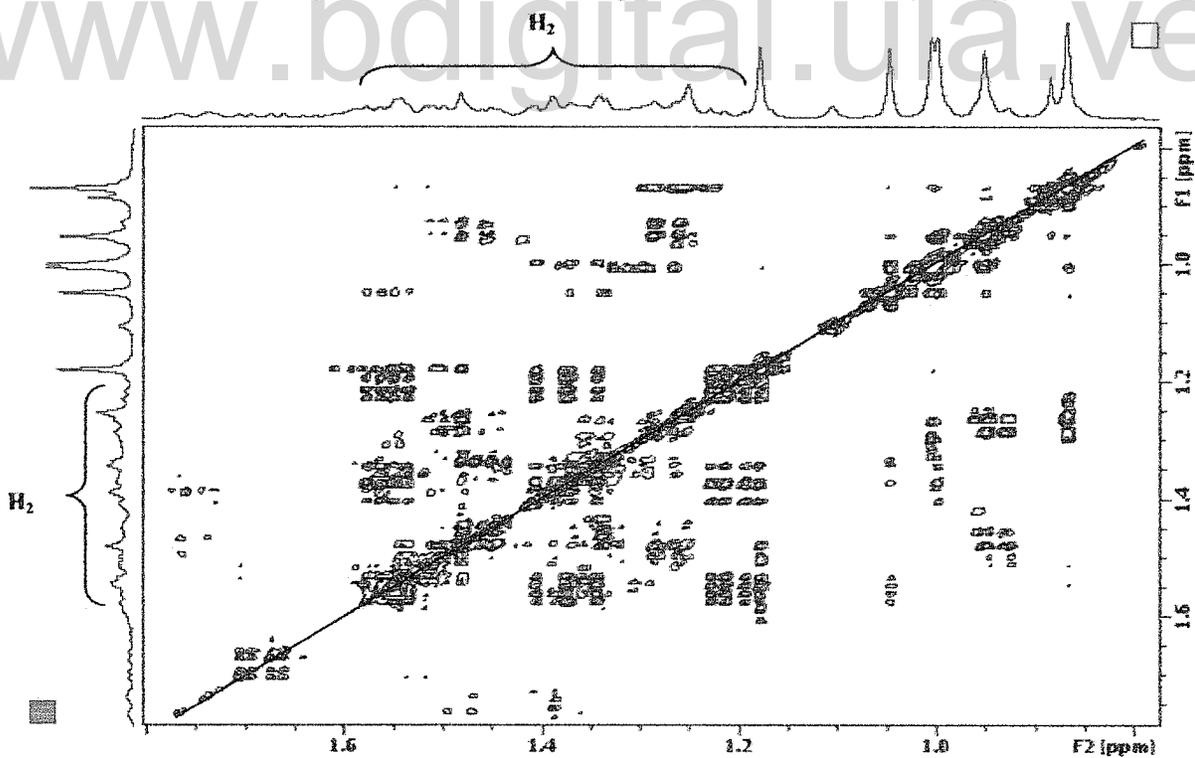


Figura 36. Friedelano, espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ - COSY (CDCl_3) (Ampliación)

Tabla 32. Desplazamientos químicos del Friedelano, RMN¹H y RMN¹³C

Nº	H (δ)	C (ppm)	Multip.	Tipo de C	C (ppm)*
1	1,3-1,5	22,43	<i>m</i>	>CH ₂	22,30
2	2,27	41,68	<i>m</i>	>CH ₂	41,50
3	1,2-1,4	29,85	-	>CH ₂	30,90
4	2,36	58,37	<i>m</i>	>CH-	58,20
5	-	42,29	-	>C<	42,10
6	1,2-1,4	41,43	<i>m</i>	>CH ₂	41,30
7	-	18,38	<i>m</i>	>CH ₂	18,20
8	1,6-1,7	53,25	<i>m</i>	>CH-	53,10
9	-	37,59	-	>C<	37,40
10	1,5-1,6	59,62	<i>m</i>	>CH-	59,40
11	1,3-1,4	35,49	<i>m</i>	>CH ₂	35,60
12	1,3-1,4	30,65	<i>m</i>	>CH ₂	30,50
13	-	39,84	-	>C<	39,70
14	-	38,44	-	>C<	38,30
15	1,2-1,4	32,56	<i>m</i>	>CH ₂	32,40
16	1,2-1,5	36,15	<i>m</i>	>CH ₂	36,00
17	-	30,14	-	>C<	30,00
18	1,6-1,7	42,94	<i>m</i>	>CH-	42,80
19	1,5-1,6	35,77	<i>m</i>	>CH ₂	35,30
20	-	28,31	-	>C<	28,10
21	1,5-1,6	32,91	<i>m</i>	>CH ₂	32,70
22	1,4-1,6	39,40	<i>m</i>	>CH ₂	39,20
23	1,16	6,97	<i>s</i>	-CH ₃	6,80
24	0,81	14,80	<i>s</i>	-CH ₃	14,60
25	0,89	18,09	<i>s</i>	-CH ₃	17,90
26	0,99	20,40	<i>s</i>	-CH ₃	20,20
27	1,01	18,81	<i>s</i>	-CH ₃	18,60
28	0,89	32,23	<i>s</i>	-CH ₃	32,10
29	0,96	35,17	<i>s</i>	-CH ₃	35,00
30	0,99	31,92	<i>s</i>	-CH ₃	31,80

*Datos para el compuesto Friedelano (Mahato y Kundu, 1994)

6.5. Compuesto EMD 82. Lup-20 (29) en-3β-ol. Lupeol.

De la columna I, en las fracciones eluidas con la mezcla de solventes hexano/diclorometano 50:50, se obtuvo un sólido que al ser cristalizado con metanol proporcionó una sustancia de color blanco (58 mg), con punto de fusión 260-263 °C. Este compuesto se observó como una sola mancha al ser analizado por cromatografía de capa fina recorrida con la mezcla hexano/diclorometano 40:60.

En el espectro de RMN¹H (Figura 37) se puede observar un doblete de doblete, centrado a δ 4,60 ppm ($J= 0,6$ Hz, 1H, H_{29b}; $J= 0,5$ Hz, 1H, H_{29a}) que por la posición donde se encuentra pudiera tratarse de un grupo olefinico. A δ 3,19 ppm se observa un doblete de dobletes que se encuentra muy desampantallado e integra para un protón el cual corresponde a un grupo que se encuentra posiblemente unido a un átomo electronegativo (H₃) ($J= 2,5$ Hz; $J= 1,6$ Hz). Centrado a δ 2,38 ppm se observa un multiplete que integra para un protón correspondiente al H₁₉; a δ 2,1 se aprecia una señal muy pequeña correspondiente al proton de un grupo OH. Luego a δ 1,91 ppm se percibe un multiplete correspondiente al H₂₁, mientras que a δ 1,65 ppm se observa un singlete perteneciente al H₃₀. Entre δ 1,70-1,60 ppm se observan las señales de cinco grupos metinos: H₅, H₉, H₁₃, H₁₈, H₁₉. A campo más alto, en la zona comprendida entre δ 1,60-1,50 ppm se observan las señales de los grupos metilenos presentes en la molécula: H₁, H₂, H₆, H₇, H₁₁, H₁₂, H₁₆, H₁₅, H₂₁, H₂₂, mientras que entre δ 0,94-0,76 ppm se encuentran los metilos que se observan a δ 0,94 ppm (H₂₆) y a δ 0,89 ppm (H₂₃).

El espectro RMN¹³C (Figura 38 y 39) muestra la presencia de treinta átomos de carbono lo que indica la presencia de un núcleo triterpeno. Los carbonos cuaternarios se encuentran a 39,30 ppm (C₄); 41,29 ppm (C₈); 38,47 ppm (C₁₀); 43,16 ppm (C₁₄); 43,34 ppm (C₁₇) y 151,32 ppm (C₂₀); este último se observa a campo más alto debido a que se trata de un carbono con hibridación sp². Once señales que se observan en posición invertida en el espectro DEPT 135° muestran la presencia de los carbonos secundarios a 39,26 ppm (C₁); 28,35 ppm (C₂); 19,69 ppm (C₆); 35,93 ppm (C₇); 22,58 ppm (C₁₁); 27,71 ppm (C₁₂); 27,84 ppm (C₁₅); 37,52 ppm (C₁₆); 30,25 ppm (C₂₁); 40,20 ppm (C₂₂) y 109,65 ppm (C₂₉), este último se observa a campo más bajo debido a que se trata de un carbono olefinico. Los carbonos terciarios se encuentran a 56,31 ppm (C₅), 52,11 ppm (C₉), 39,02 ppm (C₁₃), 48,61 ppm (C₁₈) y 48,37 ppm (C₁₉) y por último se observan las señales correspondientes a los siete carbonos primarios presentes en la molécula a 30,01 ppm (C₂₃), 16,46 ppm (C₂₄), δ 18,66 ppm (C₂₅), δ 18,38 ppm (C₂₆), δ 16,37 ppm (C₂₇), δ 18,66 ppm (C₂₈) y δ 21,73 ppm (C₃₀).

Al comparar los datos espectrales obtenidos en el presente estudio (tabla 33) con los reportados por (Mouffok, 2012 y Vizcaya, 2013), se observan similitudes en las señales, por lo que se puede inferir que se trata de un compuesto de núcleo terpenico conocido como Lupeol. Al analizar la estructura, resalta su forma cíclica terpenica conformada por 30 átomos de carbono, distribuidos en siete metilos, diez metilenos, seis metinos, seis carbonos cuaternarios y un carbono olefinico.

El lupeol fue extraído de la *V. parviflora* (Nagen y Faustino, 1997), donde se reportó actividad antiprotozoaria, antiinflamatoria, antitumoral, nutraceutica, antimicrobiana y como inhibidor enzimático, además previene la formación de cálculos renales (Gallo y Serachine, 2009).

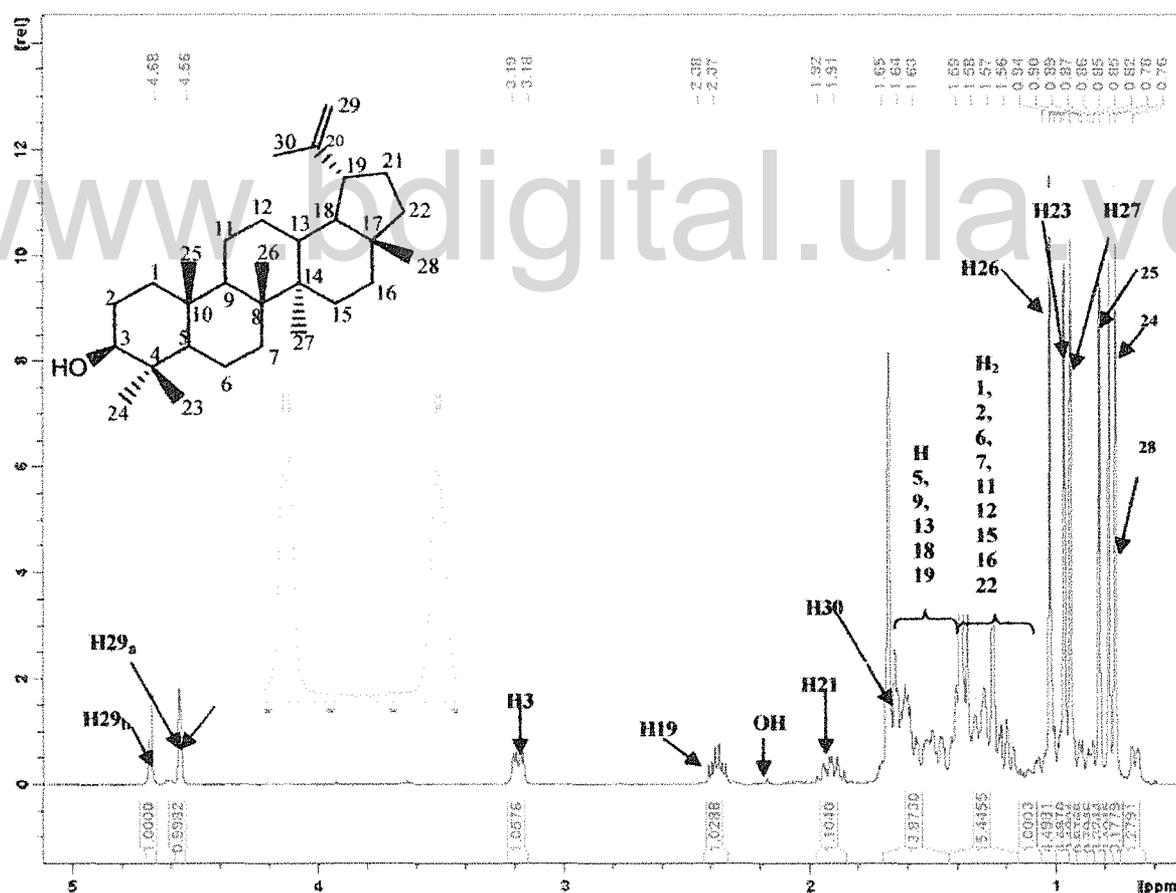


Figura 37. Lupeol, espectro de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz)

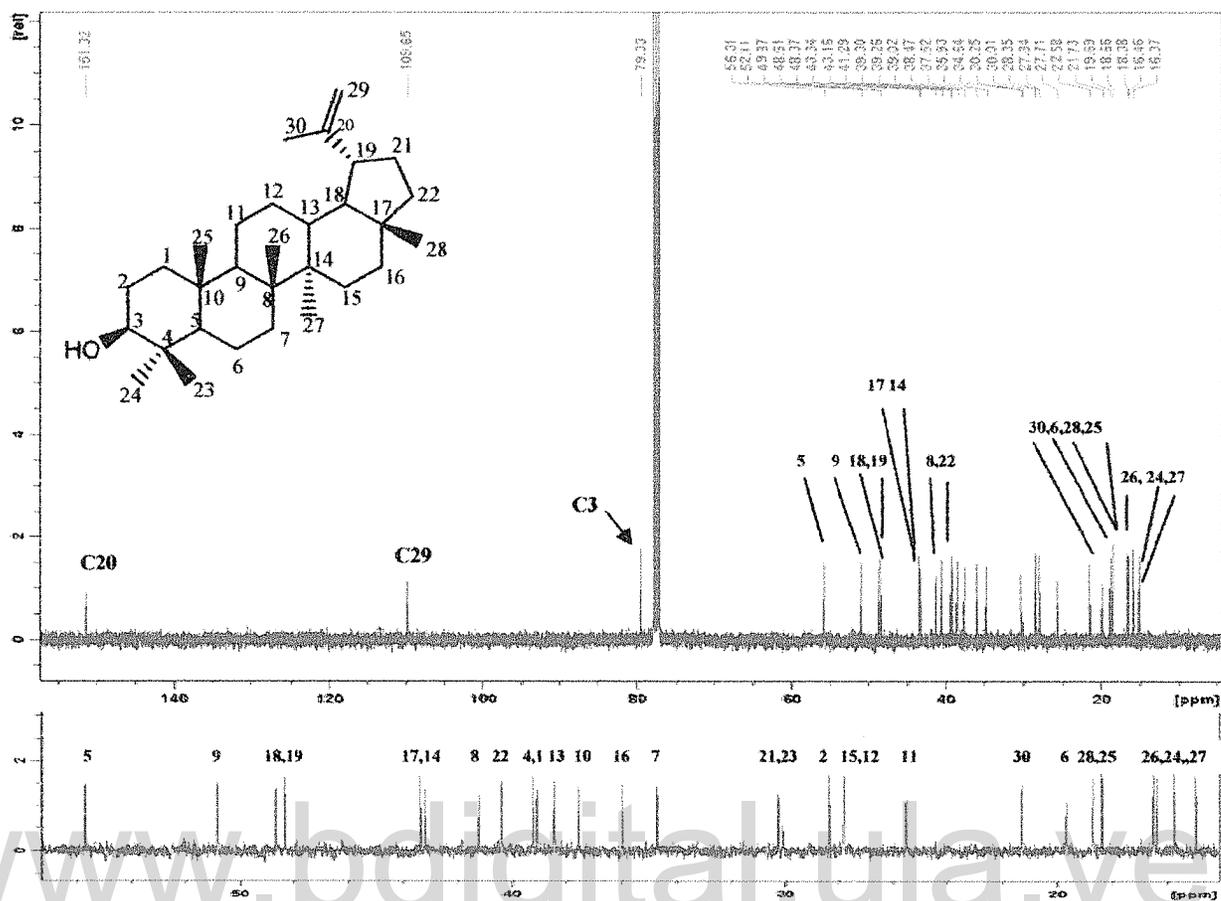


Figura 38. Lupeol, espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 100 MHz)

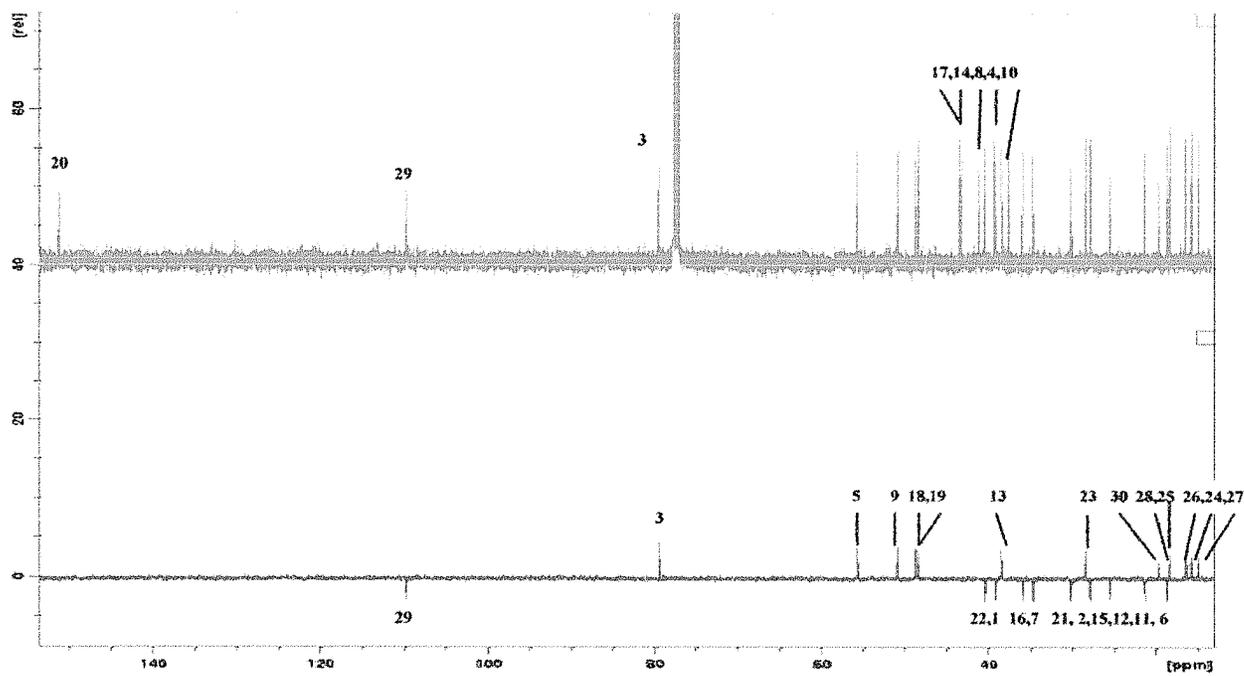


Figura 39. Lupeol, espectro de DEPT 135° (CDCl₃, 100 MHz)

Tabla 33. Desplazamientos químicos del Lupeol, RMN¹H y RMN¹³C

Nº	H (δ)	C (ppm)	Multip.	Tipo de C	H (δ)*	C (ppm)*	H (δ)**	C (ppm)**
1	1,3-1,4	39,26	<i>m</i>	>CH ₂	-	39,07	-	38,70
2	1,3-1,4	28,35	<i>m</i>	>CH ₂	-	28,34	-	27,50
3	3,18	79,33	<i>dd</i> (2,5/1,6)	>CH-OH	3,20	79,36	3,19	76,30
4	-	39,30	<i>m</i>	>C<	-	39,22	-	39,10
5	1,7-1,5	56,31	-	>CH-	-	55,67	-	55,50
6	1,4-1,2	19,69	<i>m</i>	>CH ₂	-	19,66	-	19,00
7	1,4-1,2	35,93	<i>m</i>	>CH ₂	-	34,67	-	34,20
8	-	41,19	<i>m</i>	>C<	-	41,20	-	41,10
9	1,6-1,5	52,11	-	>CH-	-	50,81	-	50,90
10	-	38,07	<i>m</i>	>C<	-	37,53	-	37,20
11	1,3-1,1	22,58	<i>m</i>	>CH ₂	-	25,51	-	21,20
12	1,3-1,1	27,71	<i>m</i>	>CH ₂	-	27,78	-	25,03
13	1,5-1,4	39,02	-	>CH-	-	38,42	-	38,50
14	-	43,16	-	>C<	-	43,19	-	42,80
15	1,2-1,1	27,84	<i>m</i>	>CH ₂	-	27,81	-	27,20
16	1,2-1,1	37,52	<i>m</i>	>CH ₂	-	35,94	-	35,90
17	-	43,34	-	>C<	-	43,36	-	43,20
18	1,7-1,5	48,61	<i>m</i>	>CH-	-	48,67	-	48,50
19	1,7-1,6	48,37	<i>m</i>	>CH-	-	48,34	-	47,80
20	-	151,32	-	>C=	-	151,32	-	151,20
21	1,3-1,2	30,25	<i>m</i>	>CH ₂	-	30,21	-	30,10
22	1,3-1,1	40,20	<i>m</i>	>CH ₂	-	40,36	-	40,30
23	0,87	30,01	<i>s</i>	-CH ₃	0,95	30,05	0,96	28,40
24	0,78	16,46	<i>s</i>	-CH ₃	0,77	16,33	0,76	15,60
25	0,82	18,66	<i>s</i>	-CH ₃	0,86	18,35	0,82	16,20
26	0,99	18,38	<i>s</i>	-CH ₃	1,02	16,47	1,02	16,10
27	0,85	16,37	<i>s</i>	-CH ₃	0,93	15,72	0,94	14,80
28	0,76	18,66	<i>s</i>	-CH ₃	0,81	18,68	0,78	18,10
29	4,60	109,65	<i>dd</i> (0,6/0,5)	=CH ₂	4,60	109,67	4,60	109,5
30	1,65	21,73	<i>s</i>	-CH ₃	1,68	21,29	1,67	19,8

* Datos para el compuesto Lupeol (Mouffok 2012)

** Datos para el compuesto Lupeol (Vizcaya 2013)

6.6.- Identificación de cuatro compuestos presentes en la especie en estudio que no tienen relación química con el género *Vismia*

Durante el proceso de separación y purificación de los compuestos presentes en la especie en estudio, se aislaron cuatro sustancias químicas que fueron identificadas mediante las técnicas de CG/EM y RMN, además de comparaciones con datos espectrales

previamente publicados e información arrojada de las bases de datos Wiley 6th edition y NIST. Entre los compuestos identificados se encuentran: Cafeína (EMD 31), Sulfanilamida (EMA 7) y Acetanilida (EMAM 36).

Al observar dichos compuestos llama la atención que los nucleos no presentan ninguna relación química con los reportados previamente para el género *Vismia*, sin embargo, al haber sido aislados en esta investigación se considera necesario realizar un análisis breve de los mismos.

El compuesto EMD 31 es un alcaloide de nucleo xantina el cual solo ha sido aislado en las familias Rubiáceae (*Genipa americana*, huito; *Coffea sp.*, café), Sapindaceae (*Paullinia cupana*, guaraná; *Paullinia yoco*, yoco), Malvaceae (*Cola acuminata*, Nuez de cola; *Theobroma cacao*, cacao), Aquifoliaceae (*Ilex paraguariensis*, yerba mate) Rutaceae (*Citrus limón*, limón; *Citrus paradisi*, toronja; *Citrus sinensis*, naranja) y Theaceae (*Camellia sinensis*, té negro), pero no existen reportes del aislamiento de alcaloides de nucleo xantina o de otro tipo de alcaloide para el genero *Vismia*.

Este compuesto se observó como un polvo fino de color blanco (41 mg), soluble en acetona, con un punto de fusión de 230-232 °C. El análisis por CG/EM (figura 40) reveló a un tiempo de retención (TR) de 11,98 min la presencia de un compuesto con 98.3% de pureza. El espectro de masas mostró el ion molecular a M^+ 194,2 m/z (figura 41), el cual al ser comparado con el de las bases de datos (NIST y Wiley) se identificó como la cafeína (figura 42 y 43).

En el espectro de RMN¹H (Figura 44) se puede observar un singulete muy desampantallado que integra para un protón, el cual corresponde a H₈ (δ 7,49 ppm) que se encuentra rodeado por un entorno electronegativo. A campo más alto, en la zona comprendida entre δ 3,55-3,33 ppm se observan las señales de los grupos metilos presentes en la molécula. El espectro RMN¹³C (Figura 45) muestra la presencia de ocho carbonos, entre los cuales se observan a 155,53 ppm (C₆); 151,82 ppm (C₂); 148,81 ppm (C₄); 141,50 ppm (C₈) y 107,70 ppm (C₅); mientras que a campo alto se detallan entre 33,68 ppm y 28,02 ppm los carbonos metílicos presentes en la molécula.

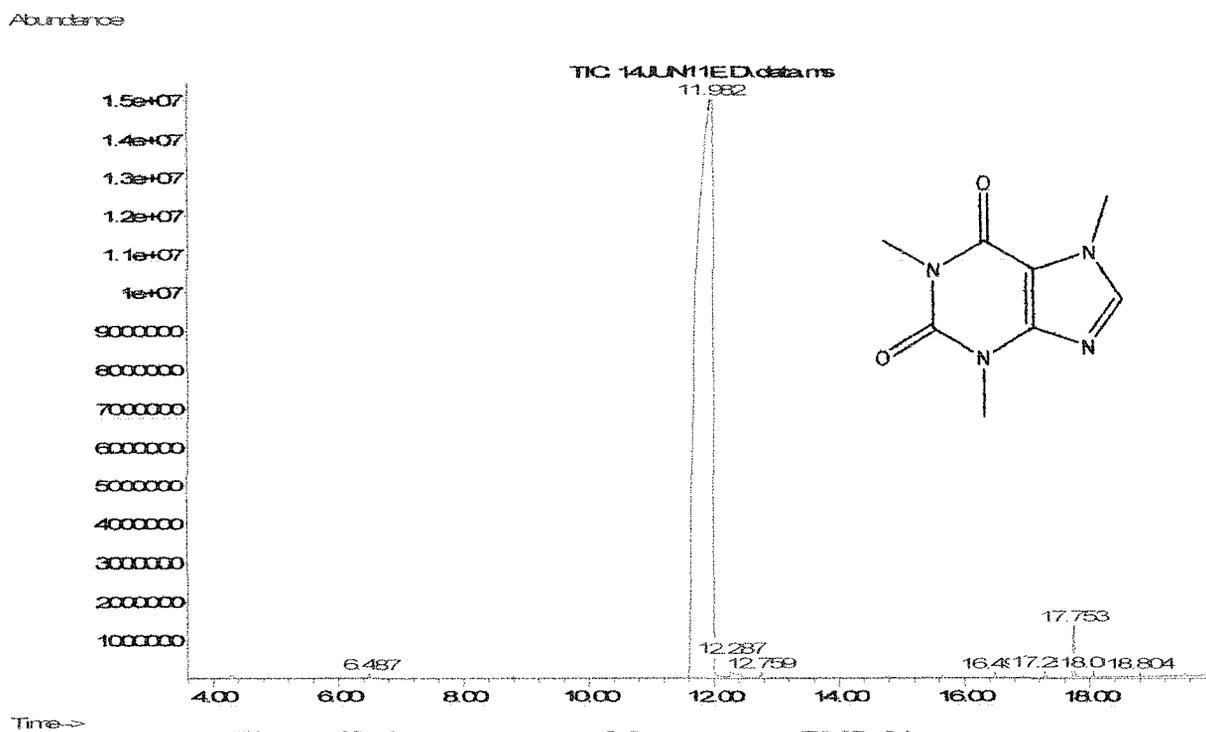


Figura 40. Cromatograma del compuesto EMD 31

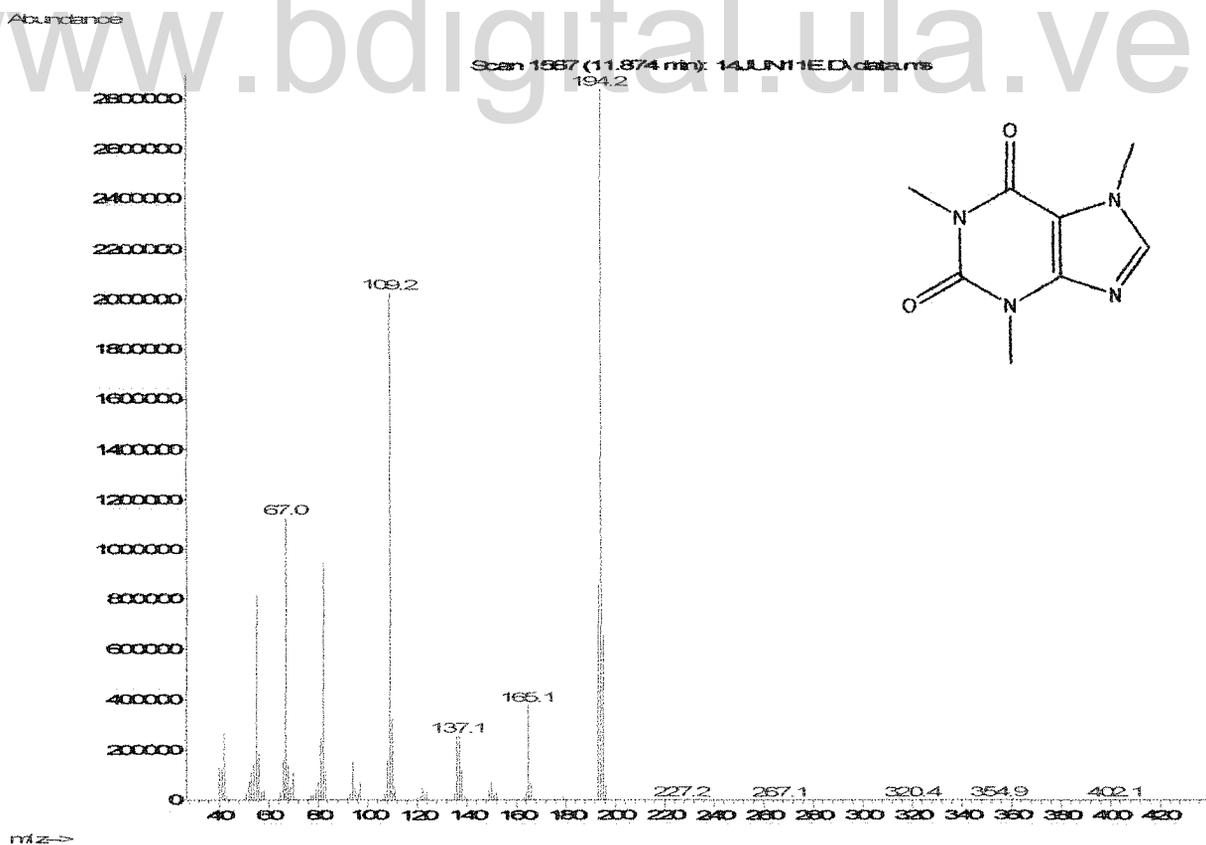


Figura 41. Espectro de Masa del compuesto EMD 31

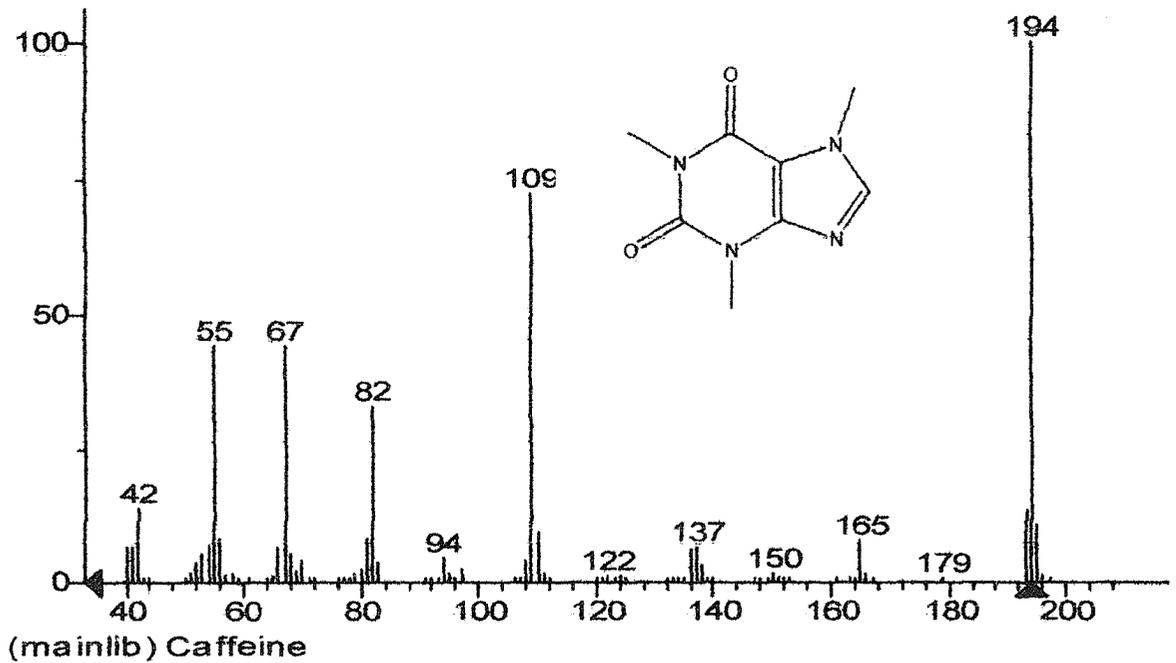


Figura 42. Espectro de Masa de la base de datos NIST de la cafeína

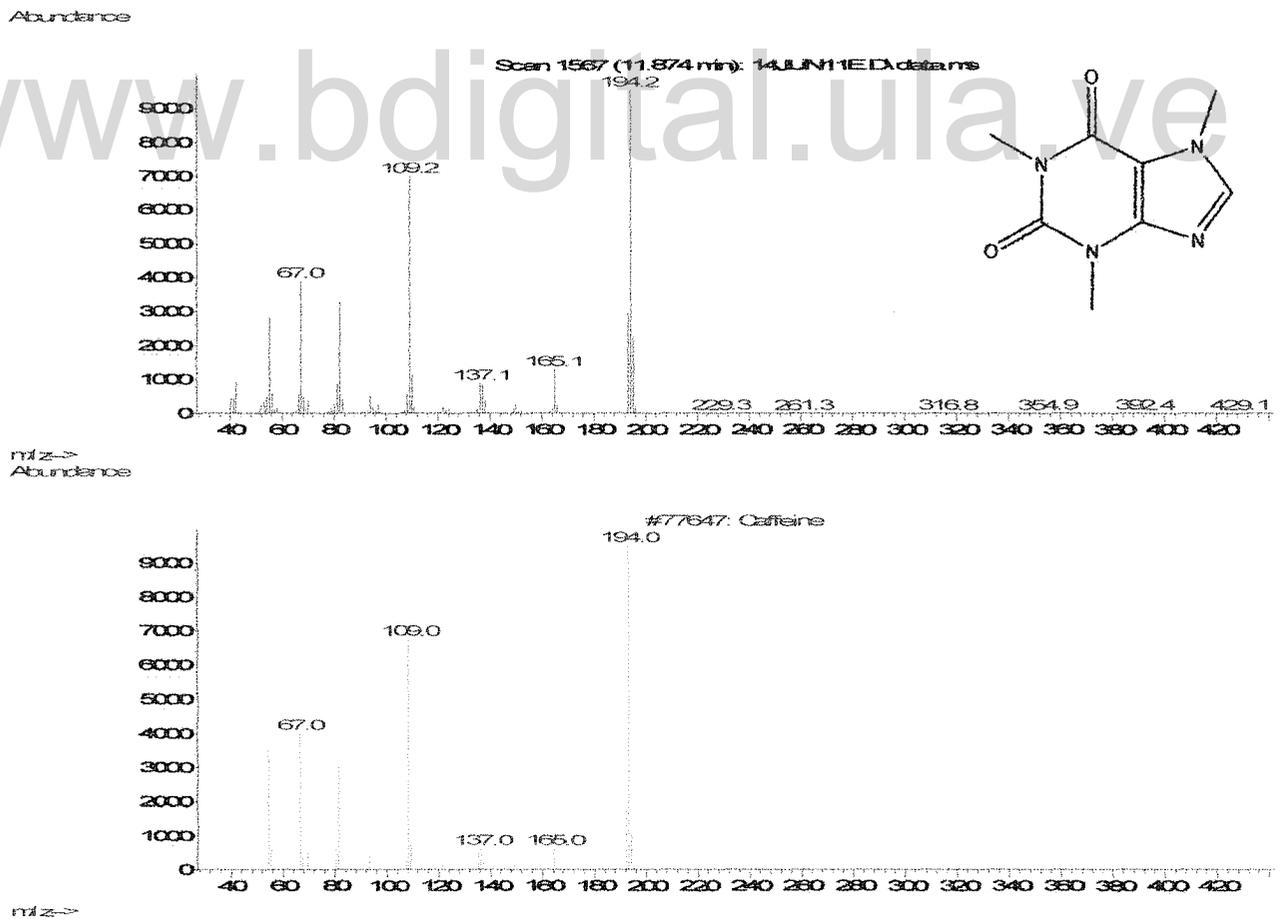


Figura 43. Espectro de Masa de la base de datos Wiley de la cafeína

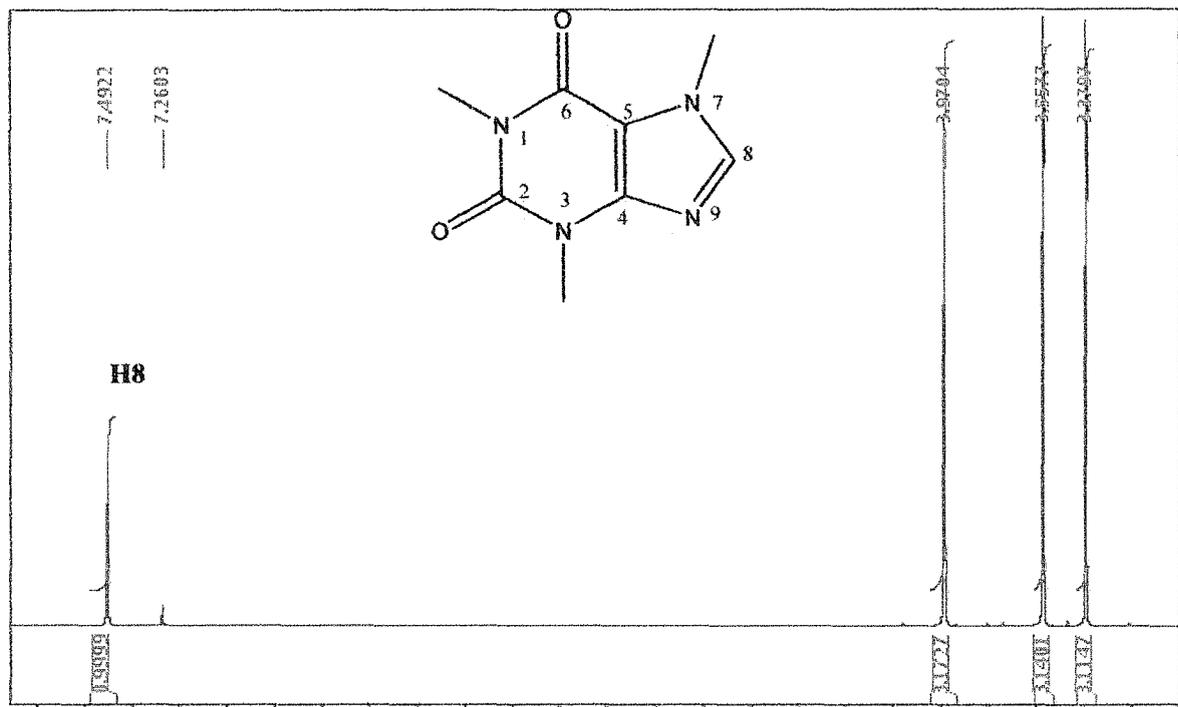


Figura 44. Cafeína, espectro de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz)

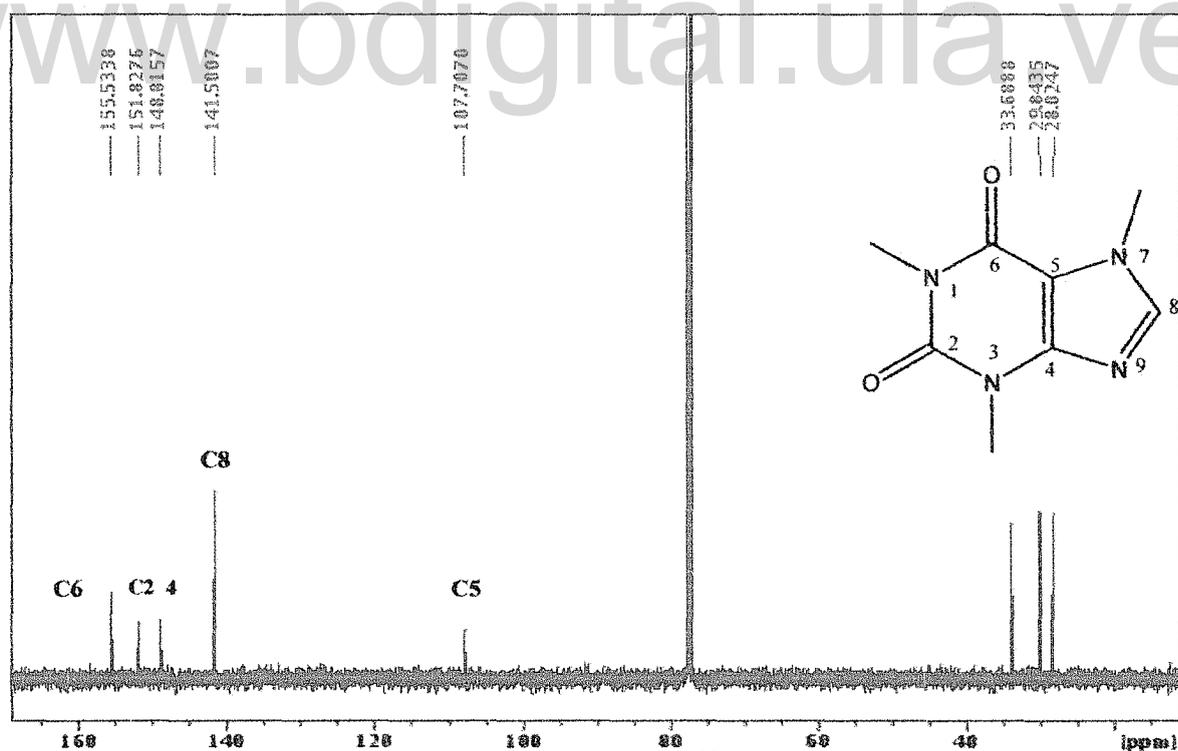


Figura 45. Cafeína, espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 100 MHz)

El compuesto codificado como EMA 7, se trata de una amina aromática con un grupo sulfónico unido a su vez a otro radical amino, la cual se aisló en las fracciones de baja polaridad (hexano 100 %) y se observó como un sólido de color blanco (39 mg) con un punto de fusión 250-252 °C. En el CG/EM (figura 46) se observó como un solo compuesto con un tiempo de retención de 13,64 min; su espectro de masas mostró la señal para el ion molecular a M^+ 172,1 (figura 47), y al ser comparado con las bases de datos NIST y Wiley (figura 48 y 49) se identificó como sulfanilamida.

En el espectro de RMN^1H (Figura 50) se observan dos singuletes en la zona de los grupos aromáticos a δ 7,59 y 6,69 ppm que integran para dos protones cada uno y corresponden a los hidrogenos de un anillo aromático disustituido en posición *para*. El espectro $RMN^{13}C$ (Figura 51) muestra señales para seis carbonos entre los cuales se observan a 153,57 ppm (C_1), 131,29 ppm (C_4), 128,96 (C_2 y C_6) y 114,40 ppm (C_3 y C_5).

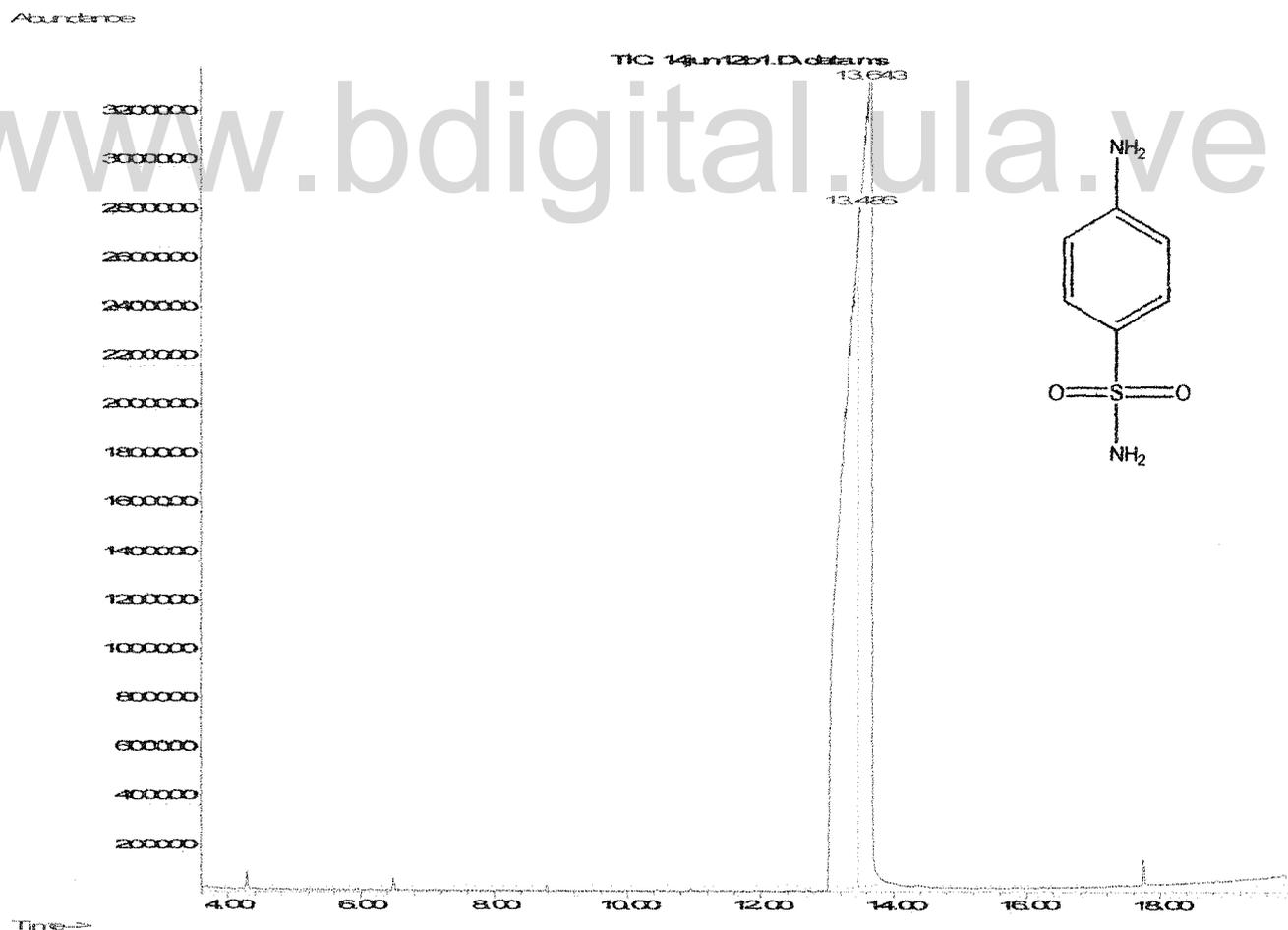


Figura 46. Cromatograma del compuesto EMA 7

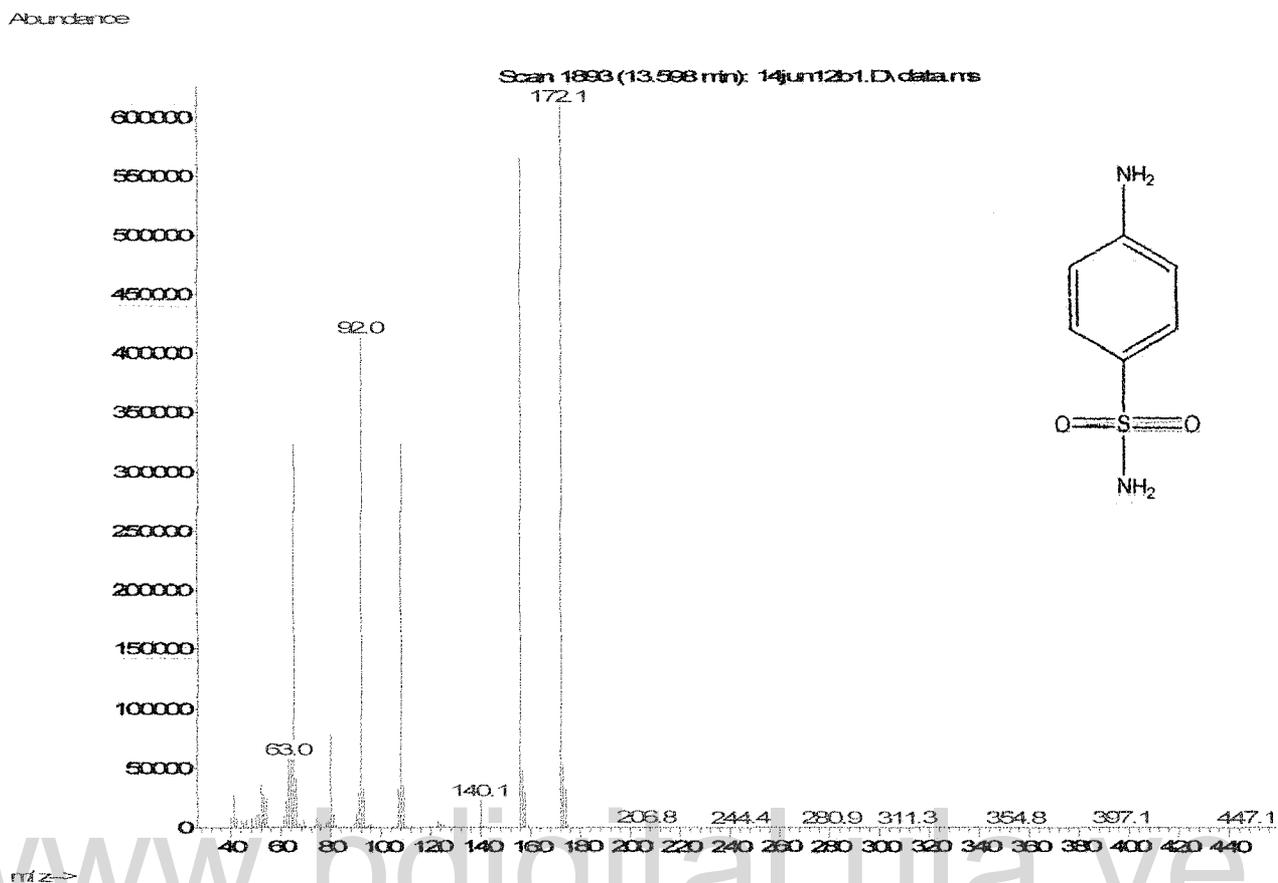


Figura 47. Espectro de Masa del compuesto EMA 7

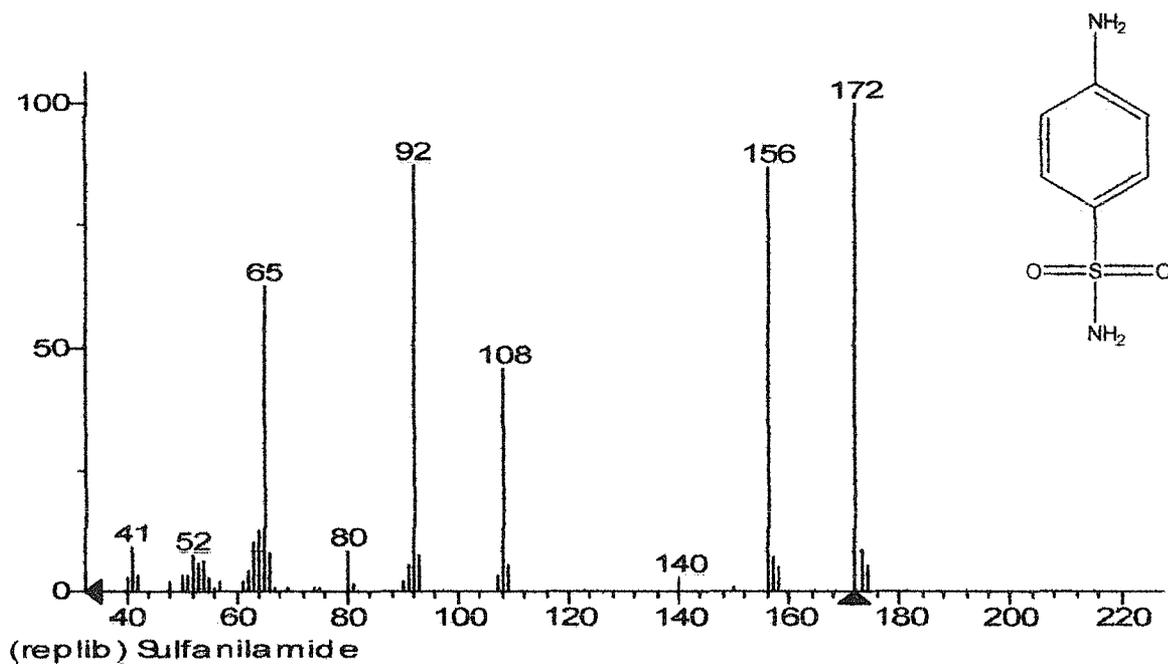


Figura 48. Espectro de Masa de la base de datos NIST de la sulfanilamida

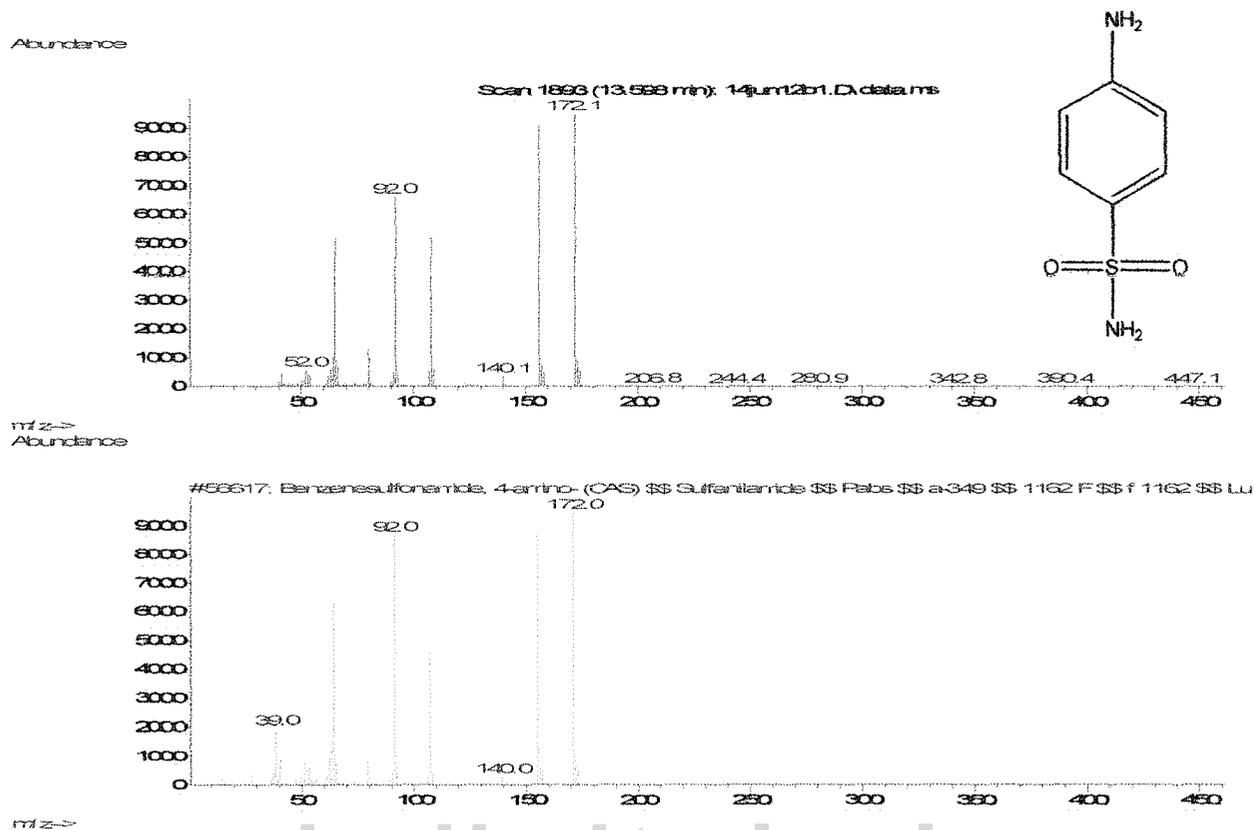


Figura 49. Espectro de Masa de la base de datos Wiley de la sulfanilamida

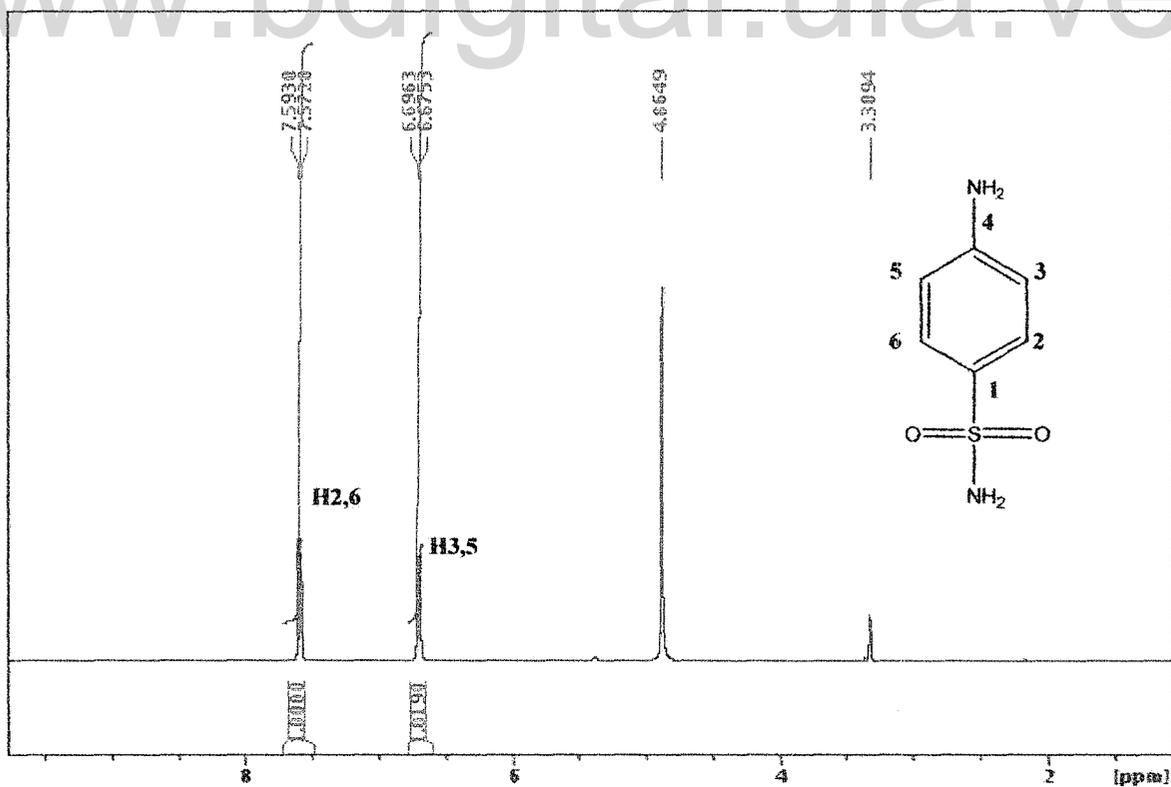


Figura 50. Sulfanilamida, espectro de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz)

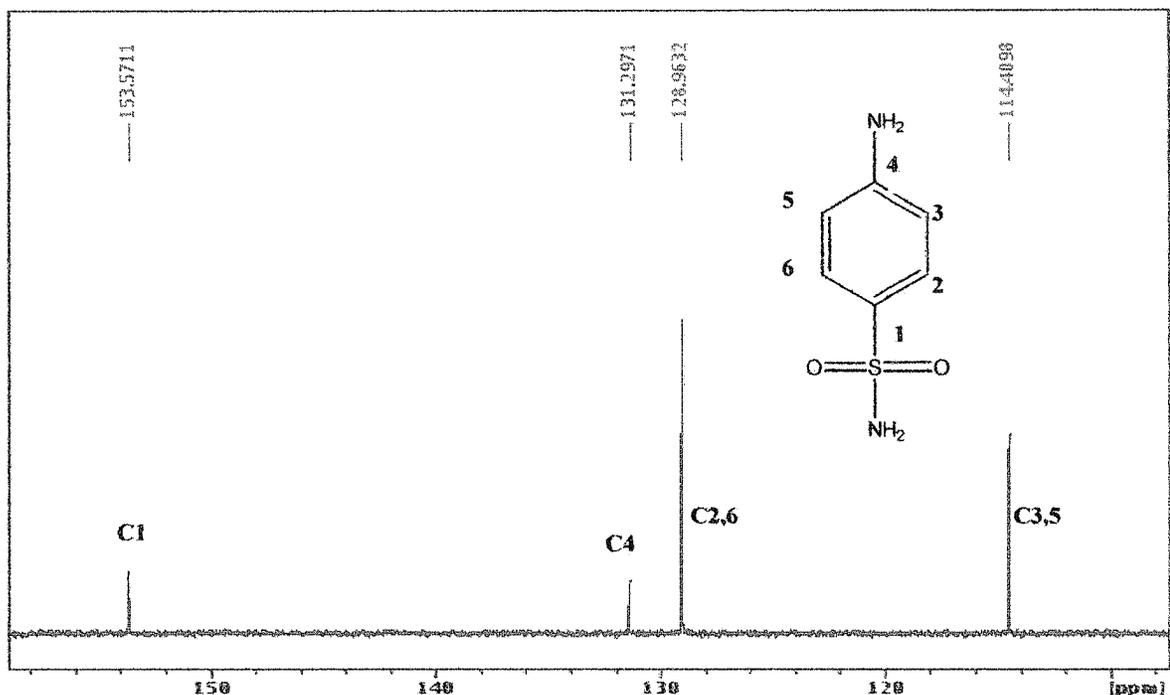


Figura 51. Sulfanilamida, espectro de RMN^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)

Por otro lado, EMAM 36 se aisló de las fracciones eluidas con la mezcla de solventes hexano/acetato de etilo 50:50 y se observó como un sólido color blanco (42 mg), con punto de fusión 98-101 °C. En el CG/EM (figura 52) se observó una sola señal con un tiempo de retención de 6,52 min y el espectro de masas mostró el ion molecular a M^+ 135,2 m/z (figura 53), el cual al ser comparado con el de las bases de datos Wiley y NIST (figura 54 y 55), se identificó como Acetanilida.

En el espectro de RMN^1H (Figura 56) se pueden observar tres señales que se encuentran entre δ 7,53 y 7,05 ppm correspondientes a los hidrogenos que están unidos al anillo aromático. A campo más alto, δ 2,09 ppm se observa la señal del grupo metilo presente en la molécula. El espectro RMN^{13}C (Figura 57) muestra la presencia de ocho átomos de carbono donde el grupo carbonilo se observa a 171,61 ppm, un carbono cuaternario a 139,85 ppm; entre 129,73 y 121,18 ppm se encuentran los demás carbonos del anillo aromático, mientras que a 23,78 ppm se observa la señal del grupo metilo.

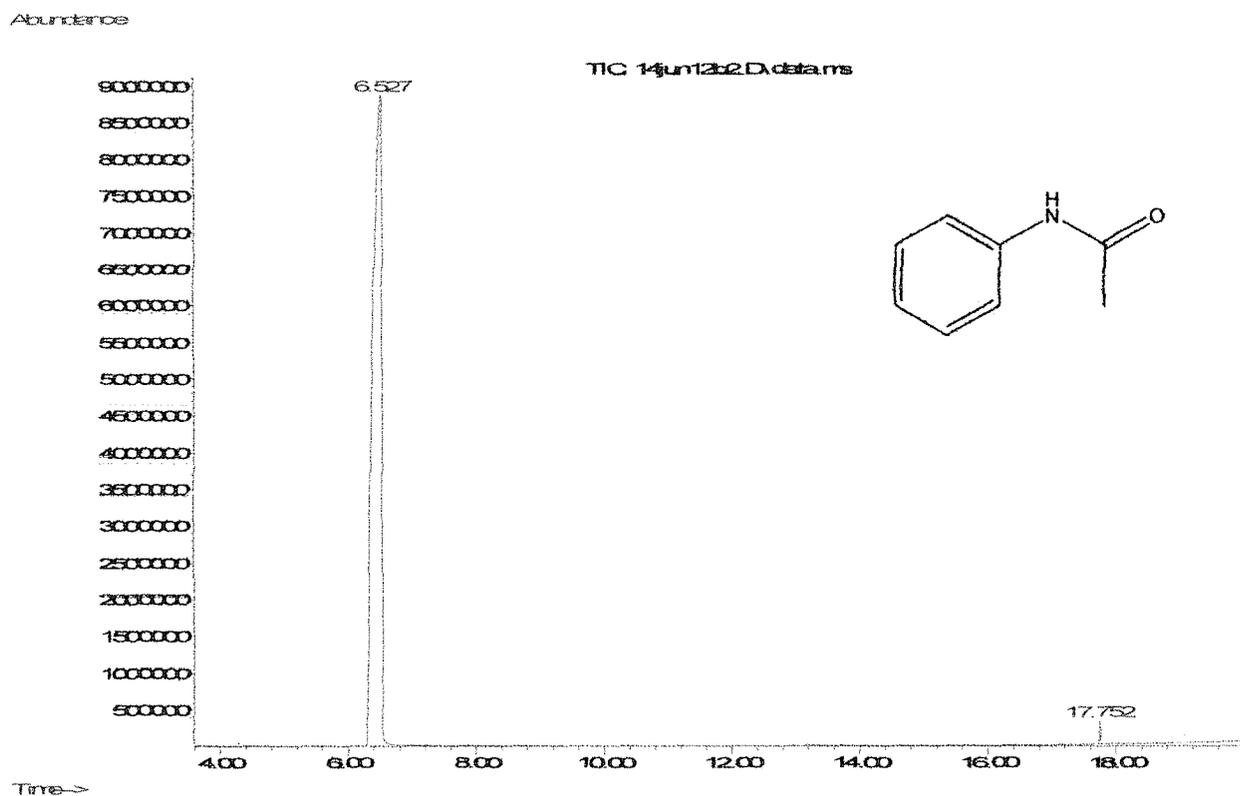


Figura 52. Cromatograma del compuesto EMAM 36

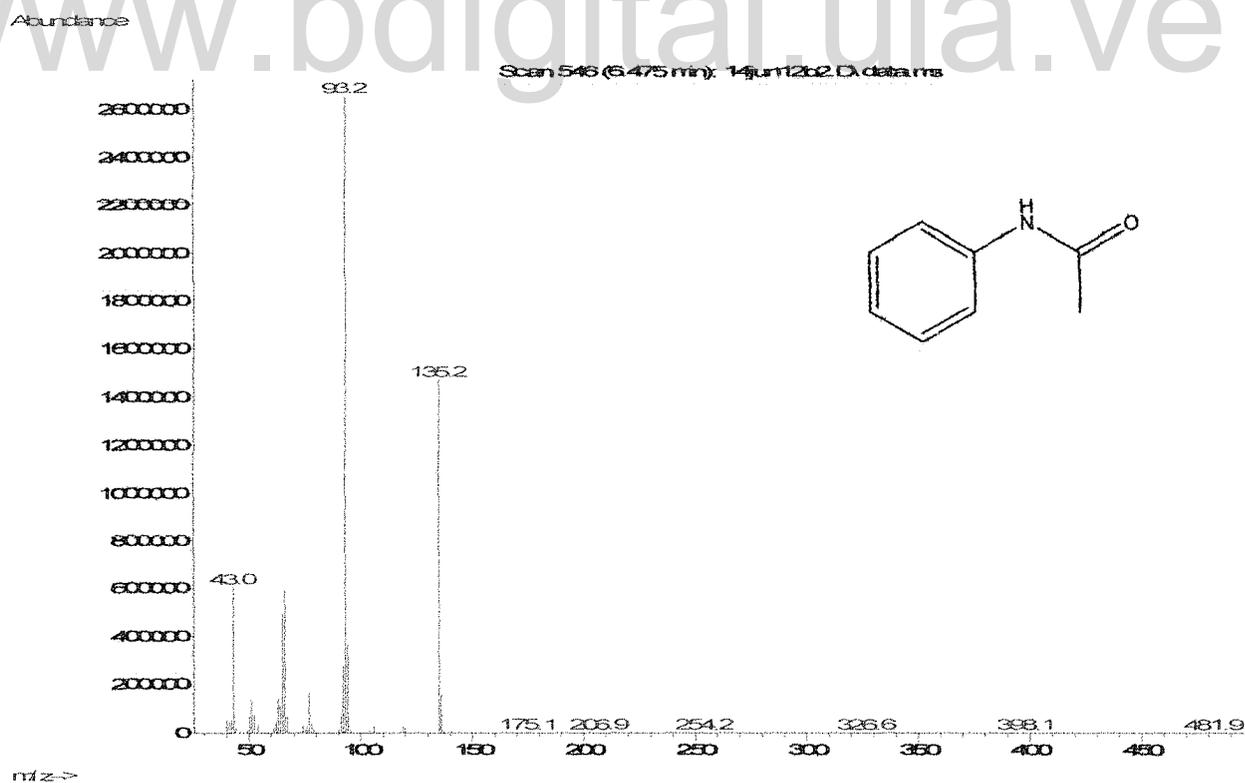


Figura 53. Espectro de Masa del compuesto EMAM 36

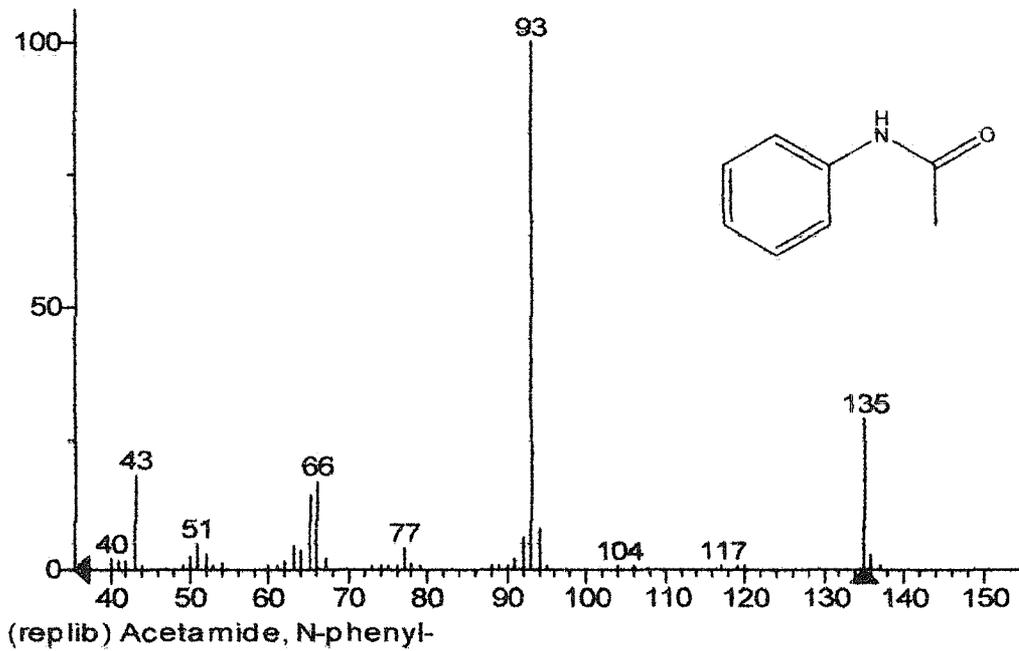


Figura 54. Espectro de Masa de la base de datos NIST de la Acetanilida

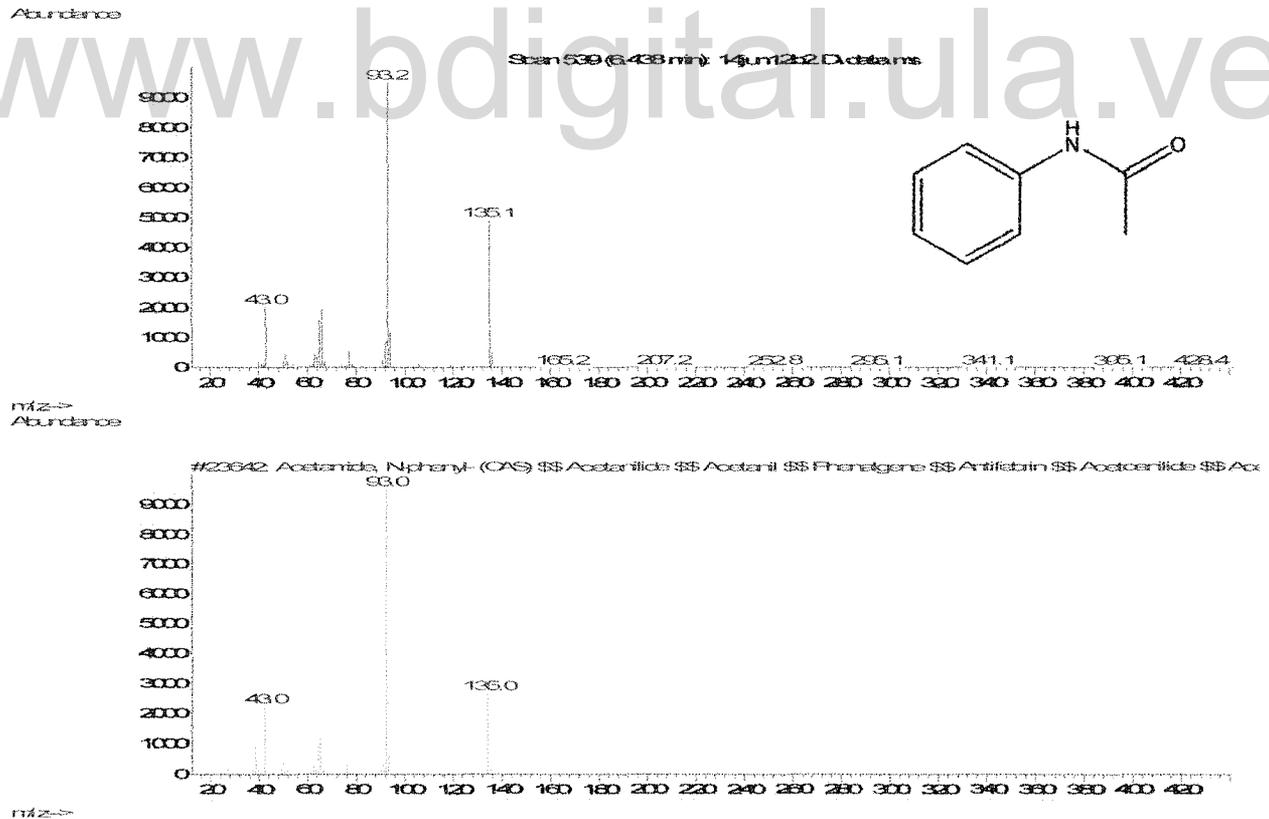


Figura 55. Espectro de Masa de la base de datos Wiley de la Acetanilida

Estos dos compuestos, Sulfanilamida y Acetanilida, no son de origen natural, sin embargo, son componentes de herbicidas agrícolas, los cuales son usados comúnmente para suprimir el desarrollo de la maleza en granjas, zonas de césped y vías públicas. Entre los productos comerciales que contienen estas sustancias se encuentran Alacloro® y Metolacloro®, los cuales son usados como pesticidas (Fernández, 2006; www.espatentes.com). Es importante señalar que el lugar de recolección, jardín botánico de la UNELLEZ, donde se encontraba la planta objeto de estudio, había sido previamente usado como zona de cultivo, lo cual explica la presencia de estos compuestos. Frecuentemente, las especies de *Vismia* son consideradas como plantas invasoras en los sitios deforestados, sirviendo como medio para evitar la erosión y recuperar los suelos; además tienen la facultad de crecer en lugares perturbados con suelos rojos y arcillosos (González *et al.*, 1980).

Finalmente, EMD 90 se aisló de las fracciones eluidas con la mezcla de solventes hexano/diclorometano 40:60 y se observó como un sólido cristalino (62 mg), con punto de fusión 290-295 °C. El espectro RMN no mostró señales que indicaran la presencia de un compuesto de naturaleza orgánica, por lo tanto, se decidió caracterizarlo a través de la técnica de cristalografía (difracción por rayos x). Este análisis se realizó en el laboratorio de Cristalografía, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes contando con la asesoría de la Dra. Graciela Díaz de Delgado y la colaboración del Msc Jines Contreras y la Lic. Valentina Cote Meza.

De acuerdo a los resultados observados en el difractograma, el patrón de polvo tomado de la muestra (EMD 90) al ser comparado con la base de datos Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) coincide con dos reportes de sulfato de amonio. Esto se hace evidente en la relación de los picos de la muestra con los reportados en la base de datos (figura 58, tabla 34).

El sulfato de amonio está presente en fertilizantes a base de nitrógeno utilizados comúnmente en suelos alcalinos. Entre los patentados que contienen esta sal se encuentran los de la marca comercial registrada como Complex® (www.smart-fertilizer.com;

www.complexargentina.com). Como ya se indicó anteriormente (pag. 114), la presencia de esta sustancia en la especie estudiada se explica por la utilización previa del suelo como area de cultivo.

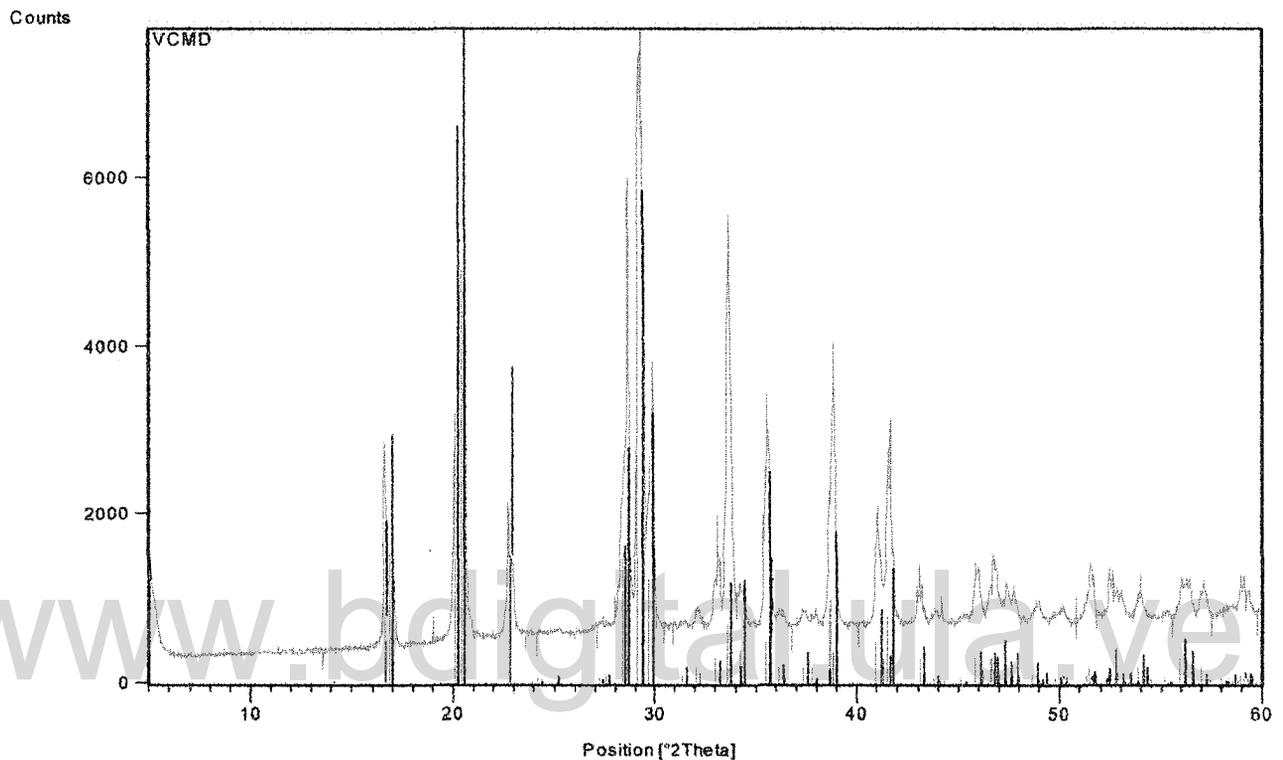


Figura 58. Difractograma del Sulfato de Amonio

Tabla 34. Datos del difractograma del Sulfato de Amonio

Visible	codigo	puntaje	Nombre del compuesto	Desplazamiento [°2Th.]	Factor de escala	Formula quimica
*	00-010-0343	73	Mascagnite	0,000	0,628	(NH ₄) ₂ SO ₄
*	01-087-2355	56	Ammonium Potassium Sulfate	0,000	0,608	[(NH ₄) _{1.797} K _{0.203}](SO ₄)

6.7. Evaluación de la actividad citotóxica de extractos y compuestos puros aislados de *Vismia guianensis*

Los extractos de hojas en hexano (EHH), flores en hexano (EFH), hojas en metanol (EHM) y flores en metanol (EFM) fueron sometidos a pruebas de citotoxicidad en células MA-104, observándose que EHH y EFH mostraron ser citotóxicos a partir de 250 $\mu\text{g/mL}$ induciendo un porcentaje de muerte celular mayor al 20 %, mientras que los extractos EHM y EFM no presentaron toxicidad a la máxima concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 59). De acuerdo a estos resultados se decidió fraccionar el extracto EHM en solventes de diferentes polaridades obteniéndose las sub-fracciones EMH, EMHD, EMD, EMDA, EMA, EMAM y EMM (Sección 5.3., pag 63) a las que del mismo modo se les realizaron pruebas de actividad citotóxica observándose que las fracciones EMDA y EMM fueron las únicas que no presentaron citotoxicidad a la concentración de 250 $\mu\text{g/mL}$ (figura 60). Con respecto al EFM no se continuó con el estudio fitoquímico debido a la pequeña cantidad de muestra disponible para este estudio pudiendo ser objeto de futuras investigaciones.

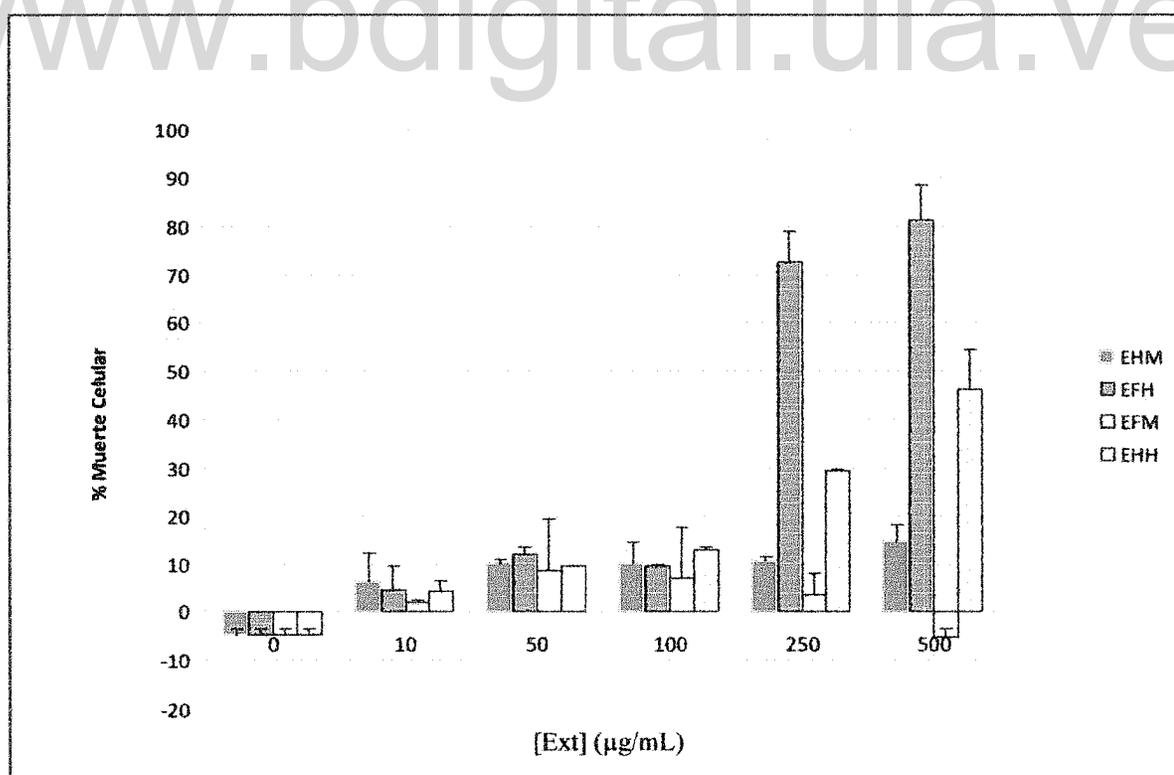


Figura 59. Citotoxicidad en células MA-104 de los extractos obtenidos con solventes de diferentes polaridades de la especie *Vismia guianensis*

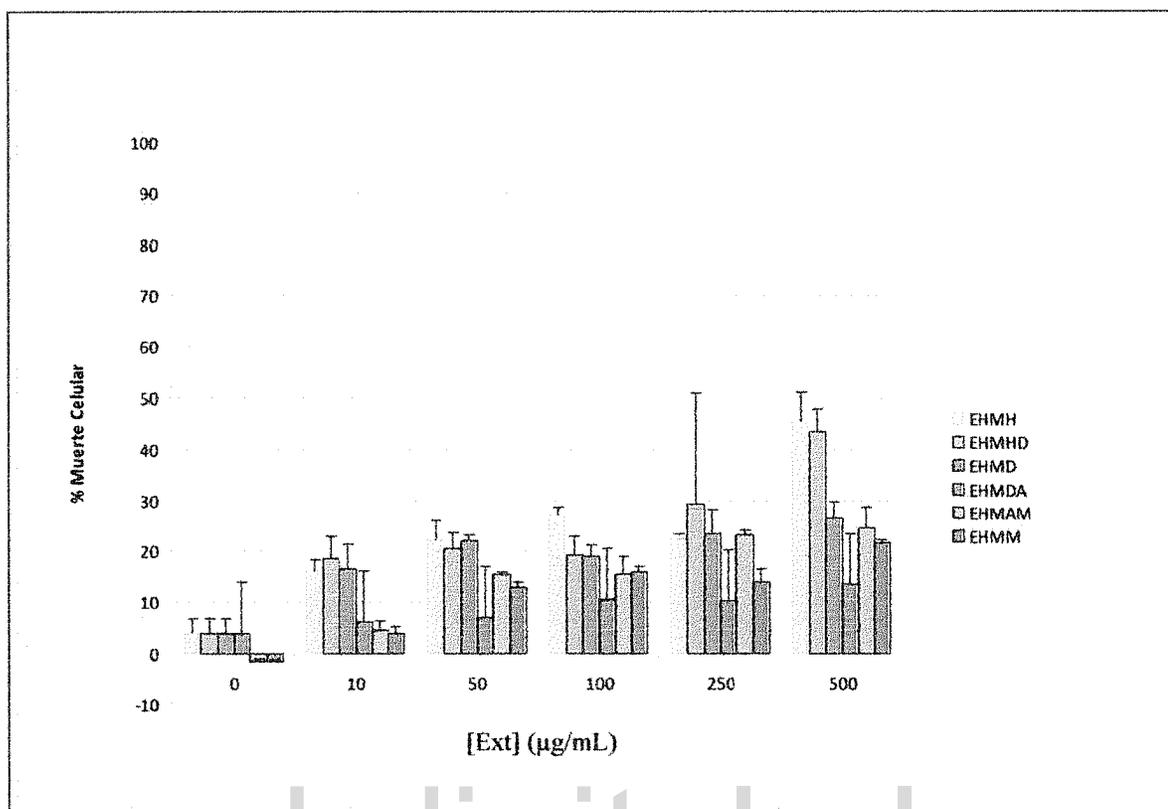


Figura 60. Citotoxicidad en células MA-104 de las fracciones obtenidas del extracto metanólico de las hojas de la especie *Vismia guianensis*

6.8. Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos y compuestos puros aislados de *Vismia guianensis*

En el análisis de actividad antibacteriana se logró determinar que solo las muestras del extracto en metanol de diclorometano/acetato de etilo (EMDA) y el extracto en metanol de metanol (EMM) presentaron inhibición del crecimiento bacteriano. Como puede observarse en las tablas 34 y 35, el extracto EMDA fue activo contra *E. coli* y *K. pneumoniae* a la CIM de 1000 µg/mL y contra *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. faecalis* a 10.000 µg/mL. Por otro lado, el extracto EMM mostró actividad contra *E. coli* (1000 µg/mL), *K. pneumoniae* (1.500 µg/mL), *S. aureus* (15.000 µg/mL), *E. faecalis* y *P. aeruginosa* (20.000 µg/mL).

Al comparar los resultados de la actividad antibacteriana de la presente investigación con los reportados por Pereira y col. 2011, en su estudio realizado con el extracto etanólico de *V. guianensis*, especie colectada en Belem-Brasil, los mismos se correlacionan en cuanto a la inhibición del desarrollo de *S. aureus* con variación en la CIM (31.300 µg/mL especie de Brazil y 10.000-15.000 µg/mL especie colectada en Venezuela). Los resultados difieren en la actividad contra las bacterias Gram negativas, ya que solo los extractos de la especie venezolana inhibieron el desarrollo de *E. coli* y *P. aeruginosa*, con valores de CIM de 1.000 µg/mL y 20.000 µg/mL, respectivamente. Esta diferencia que se observa en la actividad antibacteriana en ambos estudios, aun cuando se trata de la misma especie, puede deberse a varios factores, entre ellos: el clima, humedad, tipo de suelo, altitud, condiciones geográficas, entre otros, los cuales pueden afectar la biosíntesis de los metabolitos secundarios presentes en la planta (Zacarias *et al.*, 2004).

Existen también reportes de ensayos de actividad antibacteriana realizados a otras especies de *Vismia*, como el extracto etanólico de *V. baccifera* var. *dealbata* el cual mostró actividad contra *S. aureus* y *E. faecalis* a la concentración de 190.000 µg/mL (Salas *et al.*, 2007). Por otro lado, los extractos de las hojas, corteza y raíces de *V. guineensis* presentaron actividad contra *M. smegmatis* y *M. tuberculosis* mostrando valores de CIM entre 78,1 y 312,5 µg/mL; en el mismo estudio reportaron que esos extractos también presentaron actividad contra *C. freundii*, *E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. organii*, *S. flexneri*, *E. faecalis*, *S. aureus* y *B. megaterium* a concentraciones comprendidas entre 39,0 y 312,5 µg/mL (Mbaveng *et al.*, 2008). Como puede observarse en los estudios con las especies *V. guianensis* (colectada en Brasil; Pereira *et al.*, 2011) y *V. baccifera* (colectada en Venezuela; Salas *et al.*, 2007), los valores encontrados siguen siendo comparables a los mostrados para la especie objeto del presente estudio por lo que se considera que los compuestos presentes en los extractos EMDA y EMM pueden ser útiles como posibles agentes antibacterianos.

Además, se realizó la evaluación de los compuestos EMD 31, EMD 82, EMD 90, EMDA 8, EMDA 11, EMDA 30, EMA 7, EMAM 36 y EMAM 58 aislados en el presente estudio, observándose que EMDA 11 (friedelina) fue el único que presentó actividad contra todas las cepas ensayadas, inhibiendo el desarrollo de *S. aureus* (halo de inhibición del 3

mm) y *P. aeruginosa* (14 mm) a una concentración de 12,5 µg/mL para cada uno; en el caso de *E. faecalis* el valor de CIM fue de 25 µg/mL (20 mm), mientras que *E. coli* y *K. pneumoniae* mostraron inhibición a una concentración de 4 µg/mL con halos de inhibición de 13 mm y 16 mm, respectivamente. Por otro lado, EMD 90 (Sulfato de amonio) inhibió el crecimiento de *E. coli* (13 mm) a una CIM de 4 µg/mL; *K. pneumoniae* (13 mm) a una CIM de 6 µg/mL y *P. aeruginosa* (15 mm) a una CIM de 12,5 µg/mL. Además, EMDA 30 (sesamina) mostró actividad contra *S. aureus* y *E. faecalis* a una CMI de 400 µg/mL mostrando halos de inhibición de 45 mm y 28 mm, respectivamente.

Estudios previos realizados a compuestos aislados de la especie *Vismia baccifera* var. *dealbata* reportaron actividad antibacteriana para los compuestos sesamina contra *E. faecalis* (2000 µg/mL, 10 mm) y *P. aeruginosa* (4000 µg/mL, 8 mm) mientras que friedelina mostró inhibición para *E. faecalis* (4000 µg/mL, 8 mm) y *P. aeruginosa* (5000 µg/mL, 7 mm) (Salas *et al.*, 2007). El compuesto Vismiaquinona aislado de los frutos de la misma especie presentó actividad para *S. aureus* (40 µg/mL) y *E. faecalis* (40 µg/mL) mientras que friedelina aislada de la corteza inhibió el crecimiento de *S. aureus* (8 µg/mL) (Vizcaya *et al.*, 2013).

La existencia de reportes de actividad antibacteriana de algunos compuestos obtenidos a partir de *Vismia guianensis* confirman los resultados del presente estudio, tal es el caso de la friedelina contra importantes patógenos humanos como el *S. aureus* (Kueete *et al.*, 2007, Mbaveng *et al.*, 2008, Tomokou *et al.*, 2009, Camelo *et al.*, 2011). Por otro lado, se podría inferir que el mecanismo de acción de las sustancias que mostraron actividad en el presente estudio se realiza mediante la ruptura de la membrana de peptidoglicano que recubre estas bacterias (Cowan, 1999; Arvindet *et al.*, 2004). En el caso de las antraquinonas, estas son conocidas por unirse irreversiblemente a la cadena de aminoácidos presente en las proteínas, inactivándolas, perdiendo la bacteria de esta manera, sus funciones (Stern *et al.*, 1996).

Tabla 35. Resultado de la susceptibilidad antibacteriana de los extractos y compuestos aislados de *V. guianensis*

Extractos	Microorganismos				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
EMH	-	-	-	-	-
EMHD	-	-	-	-	-
EMD	-	-	-	-	-
EMDA	35 mm	29 mm	45 mm	43 mm	38 mm
EMA	-	-	-	-	-
EMAM	-	-	-	-	-
EMM	35 mm	23 mm	45 mm	40 mm	35 mm
Compuestos puros					
EMD 31	-	-	-	-	-
EMD 82	-	-	-	-	-
EMD 90	-	-	50 mm	45 mm	40mm
EMDA 8	-	-	-	-	-
EMDA 11	47 mm	33 mm	50 mm	48 mm	45 mm
EMDA 30	45 mm	28 mm	-	-	-
EMA 7	-	-	-	-	-
EMAM 36	-	-	-	-	-
EMAM 58	-	-	-	-	-
Control (-) DMSO	-	-	-	-	-
Antibióticos	37 mm	28 mm	29 mm	30 mm	29 mm

No actividad (-), antibióticos: Eritromicina® 15 µg (*S. aureus*), Ampicilina® 10 µg (*E. faecalis*), Amikacina® 30 µg (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*). Concentración inicial de los extractos (20.000 µg/mL) y compuestos puros (400 µg/mL). EMD 31 (Cafeína), EMD 82 (Lupeol), EMD 90 (Sulfato de amonio), EMDA 8 (Friedelano), EMDA 11 (Friedelina), EMDA 30 (Sesamina), EMA 11 (Sulfanilamida), EMAM 36 (Acetanilida), EMAM 58 (Vismiaquinona).

Tabla 36. Concentración mínima inhibitoria de los extractos y compuestos puros provenientes de *V. guianensis*

MUESTRA	Microorganismos				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
EMDA	10.000 µg/mL (17 mm)	10.000 µg/mL (14 mm)	1.000 µg/mL (23 mm)	1.000 µg/mL (15 mm)	10.000 µg/mL (13 mm)
EMM	15.000 µg/mL (17 mm)	20.000 µg/mL (23 mm)	1.000 µg/mL (13 mm)	1.500 µg/mL (15 mm)	20.000 µg/mL (35 mm)
EMD 90	-	-	4 µg/mL (13 mm)	6 µg/mL (13 mm)	12.5 µg/mL (15 mm)
EMDA 11	12.5 µg/mL (13 mm)	25 µg/mL (20 mm)	4 µg/mL (13 mm)	4 µg/mL (16 mm)	12.5 µg/mL (14 mm)
EMDA 30	400 µg/mL (45 mm)	400 µg/mL (28 mm)	-	-	-
Control (-) DMSO	-	-	-	-	-
Antibióticos	36 mm	27 mm	29 mm	28 mm	29 mm

No actividad (-), antibióticos: Eritromicina® 15 µg (*S. aureus*), Ampicilina® 10 µg (*E. faecalis*), Amikacina® 30 µg (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*). Concentración inicial de los extractos (20.000 µg/mL) y compuestos puros (400 µg/mL). EMD 90 (Sulfato de amonio), EMDA 11 (Friedelina), EMDA 30 (Sesamina).

6.9. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos y compuestos puros de *Vismia guianensis*

En este análisis se logró determinar que los extractos EMD, EMA y los compuestos EMA 7 (Sulfanilamida), EMAM 36 (Acetanilida) presentaron inhibición del crecimiento fungico. Como puede observarse en la tabla 36, los extractos fueron activos contra *C. albicans*, *C. krusei* y *C. parapsilosis* a la CIM de 20.000 $\mu\text{g/mL}$, mientras que los compuestos inhibieron el crecimiento fungico de esas mismas cepas a la CIM de 400 $\mu\text{g/mL}$. Al comparar estos resultados con los reportados por Camelo *et al.*, 2011, en un estudio realizado con el extracto etanólico de *V. guianensis* colectado en Brasil, donde observaron actividad antifúngica contra *C. albicans* con valores de CIM (25.600 $\mu\text{g/mL}$), *C. krusei* (500.000 $\mu\text{g/mL}$) y *C. parasilopsis*, (31.250 $\mu\text{g/mL}$) puede deducirse que la especie colectada en Venezuela presenta mejor actividad que la estudiada en Brasil ya que los valores de CIM no superan los 20.000 $\mu\text{g/mL}$. En otro estudio para la especie *V. guineensis* reportaron actividad contra *C. albicans* (78.120 $\mu\text{g/mL}$, extracto; 39.060 $\mu\text{g/mL}$, vismiaquinona) y contra *C. glabrata* (156.250 $\mu\text{g/mL}$, extracto; 39.060 $\mu\text{g/mL}$ vismiquinona) (Mbagveng, *et al.*, 2008). Por otro lado, también se han realizado estudios del extracto acuoso de las hojas de *V. guianensis* encontrándose actividad contra *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilopsis* y *C. neoformans* (Lizcano *et al.*, 2012).

Tabla 37. Resultado de la susceptibilidad antifúngica de los extractos y compuestos aislados de *V. guianensis*

Extractos	Microorganismos					
	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. neoformans</i>
EMH	-	-	-	-	-	-
EMHD	-	-	-	-	-	-
EMD	20.000 µg/mL (7mm)	-	-	20.000 µg/mL (7mm)	20.000 µg/mL (7mm)	-
EMDA	-	-	-	-	-	-
EMA	20.000 µg/mL (7mm)	-	-	20.000 µg/mL (7mm)	20.000 µg/mL (7mm)	-
EMAM	-	-	-	-	-	-
EMM	-	-	-	-	-	-
Compuestos puros						
EMD 31	-	-	-	-	-	-
EMD 82	-	-	-	-	-	-
EMD 90	-	-	-	-	-	-
EMDA 8	-	-	-	-	-	-
EMDA 11	-	-	-	-	-	-
EMDA 30	-	-	-	-	-	-
EMA 7	400 µg/mL (7mm)	-	-	400 µg/mL (7mm)	400 µg/mL (7mm)	-
EMAM 36	400 µg/mL (7mm)	-	-	400 µg/mL (7mm)	400 µg/mL (7mm)	-
EMAM 58	-	-	-	-	-	-
Control negativo	-	-	-	-	-	-
Antifungicos	50 mm	36 mm	50 mm	45 mm	33 mm	49 mm

Ausencia de halo de inhibición (-), presencia de halo de inhibición (mm), control negativo (DMSO), antifúngicos (Fluconazol 25 µg y Ketoconazol 25 µg). Concentración inicial de los extractos (20.000 µg/mL) y compuestos puros (400 µg/mL); EMD 31 (Cafeína) EMD 82 (Lupeol), EMD 90 (Sulfato de amonio), EMDA 8 (Friedelano), EMDA 11 (Friedelina), EMDA 30 (Sesamina), EMA 7 (Sulfanilamida), EMAM 36 (Acetanilida), EMAM 58 (Vismiaquinona).

6.10. Evaluación de la actividad larvicida de los extractos y compuestos puros de *Vismia guianensis*

Esta prueba se realizó siguiendo el método de la organización mundial de la salud (OMS, 1981) descrita en la sección 5.6.3., pag 73. En total se probaron siete extractos (EMH, EMHD, EMD, EMDA, EMA, EMAM y EMM) y nueve compuestos puros (EMD 31, 82, 90; EMDA 8, 11, 30; EMA 7 y EMAM 36, 58). Se realizaron lecturas a las 1, 6, 12, 24, 36 y 48 h de exposición, sin embargo, no se observó muerte larval en ninguno de los ensayos realizados, ya que se detectaron movimientos voluntarios, incluyendo subir a la superficie del tanque a respirar. Estos resultados indican que los extractos de la especie *V. guianensis* no presentan actividad contra larvas de la especie *Aedes aegypti*. Según la búsqueda de antecedentes realizada para la presente investigación no existen reportes de actividad larvicida para el genero *Vismia*.

6.11. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos y compuestos puros de *Vismia guianensis*

La actividad captadora de radicales libres de los extractos y compuestos puros obtenidos a partir de *V. guianensis* se midió aplicando el método descrito por (Goupy *et al.*, 2009) (ver sección 5.6.5. pag 76), el cual se basó en medir la absorbancia de la solución en metanol de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•).

La tabla 38, muestra la actividad secuestrante de radicales libres de los extractos y compuestos puros identificados en la especie *V. guianensis* donde se evidencia una marcada actividad antioxidante en cada una de las muestras, siendo las más representativas EMD (52,79 %), EMDA (91,90 %), EMA (92,52 %), EMAM (92,62 %) y EMM (93,08 %), respectivamente, mientras que para el compuesto EMDA 58 (92,78 %) se observa una marcada actividad teniendo en cuenta que el control positivo con ácido ascórbico presenta un 97 % de inhibición de radicales libres. Al considerar el aislamiento de compuestos obtenidos por marcha fitoquímica en esta investigación se pone de manifiesto la presencia de grupos hidroxilicos dentro de las muestras analizadas, los cuales ejercen su acción por donación de protones, evaluándose así la capacidad secuestrante (Jung *et al.*, 2006).

Una vez establecida la actividad antioxidante en los extractos y el compuesto aislado (EMDA 58, Vismiaquinona) de la especie en estudio, se continuó con la determinación de los valores de IC_{50} , para aquellas muestras que exhibieron capacidad secuestrante de radicales libres superior al 50% (tabla 38).

En la tabla 39 se resumen los datos obtenidos del análisis de la ecuación de la recta (figuras 61 y 62) para determinar el porcentaje de reducción media del DPPH• (IC_{50}) donde se observa que el EMAM muestra el mayor potencial antioxidante con un valor de IC_{50} de 0,096 mg/mL seguido por EMM cuyo IC_{50} es 0,129 mg/mL y EMA con un IC_{50} de 0,625 mg/mL, mientras que EMDA y EMD exhibieron valores de 1,371 mg/mL y 3,311 mg/mL, respectivamente. El compuesto EMAM 58 (Vismiaquinona) presentó un valor de 0,123 mg/mL lo que indica que posee una elevada capacidad secuestrante de radicales libres. Estudios previos realizados con el compuesto Vismiaquinona aislado de los frutos de

Vismia guianensis revelaron el potencial antioxidante de este compuesto con un valor de 0,00704 mg/mL; mientras que el extracto metanólico de la misma especie mostró incluso mayor capacidad secuestrante de radicales libres con un valor de 0.00652 mg/mL (Álvarez *et al.*, 2008). Por otro lado, el extracto metanólico de *Vismia baccifera* var. *dealbata* también fue objeto de estudio en relación al potencial antioxidante mostrando valores de 0,827 mg/mL (frutos) y 0,998 mg/mL (corteza) (Vizcaya, 2013).

Las figuras 61 y 62 indican los porcentajes de reducción donde los puntos describen una trayectoria lineal con pendiente positiva, lográndose con esto determinar gráficamente la concentración a la cual los extractos inhiben la formación de radicales en un 50%.

Los extractos vegetales ricos en sustancias antioxidantes, atribuyen una protección natural a las plantas contra los radicales libres formados por la radiación UV necesaria para la fotosíntesis (Draeos, 2006; González *et al.*, 2001), es por esto que sustancias con grupos polifenólicos, como flavonoides, antraquinonas y taninos no solo son importantes para las plantas si no que constituyen una fuente de antioxidantes naturales necesarios para el bienestar de todo ser humano.

Tabla 38. Actividad antioxidante y capacidad secuestrante de radicales libre (CSRL) de los extractos y compuestos aislados de *V. guianensis* a 4 mg/mL

Muestra	Absorbancia a los 30 min	CSRL (%)	(CSRL _{PROMEDIO} ±6) %
EMD	0,311	52,227	52,790 ± 0,44
	0,307	52,841	
	0,304	53,302	
EMDA	0,046	92,933	91,909 ± 0,88
	0,052	92,012	
	0,060	90,783	
EMA	0,049	92,473	92,524 ± 0,19
	0,047	92,780	
	0,050	92,319	
EMAM	0,048	92,626	92,626 ± 0,12
	0,047	92,780	
	0,049	92,473	
EMM	0,043	93,394	93,087 ± 0,54
	0,050	92,319	
	0,042	93,548	
EMD 31	0,528	18,894	19,149 ± 0,32
	0,527	19,047	
	0,524	19,508	
EMD 82	0,452	30,568	30,619 ± 0,07
	0,451	30,722	
	0,452	30,568	
EMD 90	0,596	8,448	8,601 ± 0,26
	0,594	8,755	
	0,595	8,602	
EMDA 8	0,454	30,261	28,673 ± 1,12
	0,470	27,803	
	0,469	27,957	
EMDA 11	0,604	7,219	6,912 ± 0,25
	0,608	6,605	
	0,606	6,912	
EMDA 30	0,619	4,915	5,068 ± 0,21
	0,616	5,376	
	0,619	4,915	
EMA 7	0,624	4,147	4,300 ± 0,41
	0,626	3,840	
	0,619	4,915	
EMAM 36	0,442	32,104	31,950 ± 0,16
	0,441	32,258	
	0,446	31,490	
EMAM 58	0,045	93,087	92,780 ± 0,25
	0,047	92,780	
	0,049	92,473	
Acido Ascórbico®	0,018	97,235	97,235 ± 0,0
	0,018	97,235	
	0,018	97,235	
DPPH•	0,651	-	-

No actividad (-), EMD 31 (Cafeina) EMD 82 (Lupeol), EMD 90 (Sulfato de amonio), EMDA 8 (Friedelano), EMDA 11 (Friedelina), EMDA 30 (Sesamina), EMA 7 (Sulfanilamida), EMAM 36 (Acetanilida), EMAM 58 (Vismiaquinona), DPPH• (1,1-difenil-2-picrilhidrazil).

Tabla 39. Determinación del porcentaje de reducción media del DPPH• (IC₅₀), de los extractos y compuestos aislados de *V. guianensis* a diferentes concentraciones.

Determinación de la capacidad secuestrante de radicales libre (CSRL)				
Muestra/concen.(mg/mL)	Absorbancia a los 30 min	CSRL (%)	(CSRL _{PROMEDIO} ±σ) %	
EMD	2	0,526 /0,520 /0,511	19,201 /20,122 /21,505	20,276 ± 0,94
	3	0,397 /0,380 /0,379	39,016 /41,628 /41,781	40,808 ± 1,26
	5	0,042 /0,041 /0,048	93,548 /93,702 /92,626	93,292 ± 0,47
EMDA	0,25	0,533 /0,531 /0,526	18,126 /18,433 /19,201	18,586 ± 0,45
	0,50	0,498 /0,483 /0,485	23,502 /25,806 /25,499	24,935 ± 1,02
	2,00	0,218 /0,197 /0,193	66,513 /69,738 /70,353	68,868 ± 1,68
EMA	0,25	0,470 /0,461 /0,464	27,803 /29,185 /28,725	28,571 ± 0,57
	0,50	0,361 /0,353 /0,366	44,546 /45,775 /43,778	44,699 ± 0,82
	1,0	0,208 /0,164 /0,187	68,049 /74,808 /71,275	71,377 ± 2,76
EMAM	0,05	0,410 /0,415 /0,411	37,020 /36,251 /36,866	36,712 ± 0,33
	0,12	0,257 /0,261 /0,263	60,522 /59,907 /59,600	60,009 ± 0,38
	0,25	0,082 /0,075 /0,077	87,404 /88,479 /88,172	88,018 ± 0,45
EMM	0,05	0,490 /0,488 /0,492	24,731 /25,038 /24,424	24,731 ± 0,25
	0,15	0,298 /0,299 /0,289	54,224 /54,070 /55,606	54,633 ± 0,69
	0,2	0,160 /0,159 /0,166	75,422 /75,576 /74,500	75,166 ± 0,47
EMDA 58	0,01	0,540 /0,545 /0,558	17,050 /16,282 /14,285	15,872 ± 1,16
	0,12	0,306 /0,296 /0,286	52,995 /54,531 /56,067	54,531 ± 1,25
	0,25	0,090 /0,089 /0,087	86,175 /86,328 /86,635	86,379 ± 0,19
Acido Ascórbico®		0,018	97,235	97,235 ± 0,0
		0,018	97,235	
		0,018	97,235	
DPPH•	0,651	-	-	

No actividad (-), EMAM 58 (Vismiaquinona), DPPH• (1,1-difenil-2-picrilhidrazil).

Tabla 40. Datos obtenidos del análisis de la ecuación sobre la recta en la determinación grafica del porcentaje de reducción media del DPPH• (IC₅₀), de los extractos y compuestos aislados de *V. guianensis*.

Determinación gráfica del porcentaje de reducción medio del DPPH• (IC ₅₀)					
Compuestos	Punto de corte	Pendiente (%/mgxmL ⁻¹)	Dispersión	Ecuación de la Línea Recta	IC ₅₀
EMD	- 33,02	25,07	0,996	Y=25,07X - 33,02	3,311
EMDA	+ 9,84	29,28	0,999	Y=29,28X + 9,84	1,371
EMA	+14,17	57,24	0,997	Y=57,24X + 14,17	0,625
EMAM	+25,67	253,3	0,991	Y=253,3X + 25,67	0,096
EMM	+ 6,76	333,1	0,993	Y=333,1X + 6,76	0,129
EMAM 58	+13,02	298,7	0,993	Y=298,7X + 13,02	0,123

EMAM 58 (Vismiaquinona), IC₅₀ (Porcentaje de reducción medio del DPPH•)

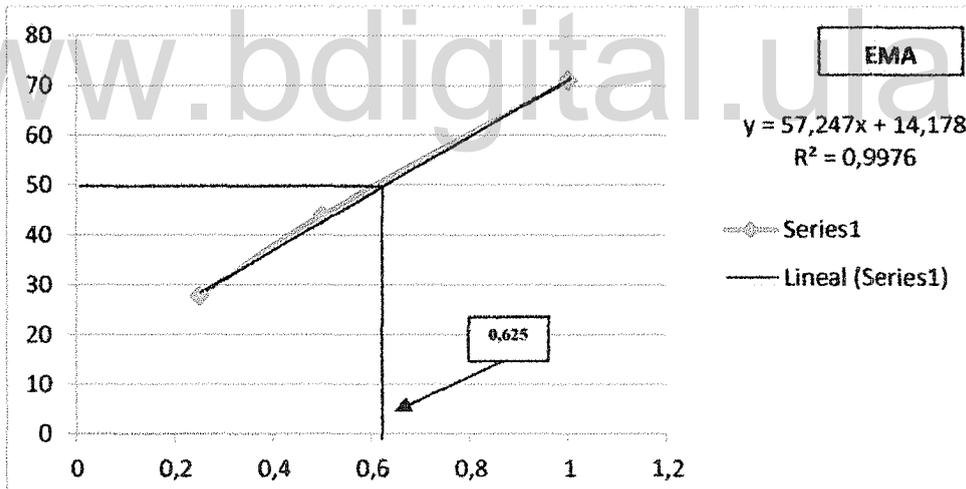
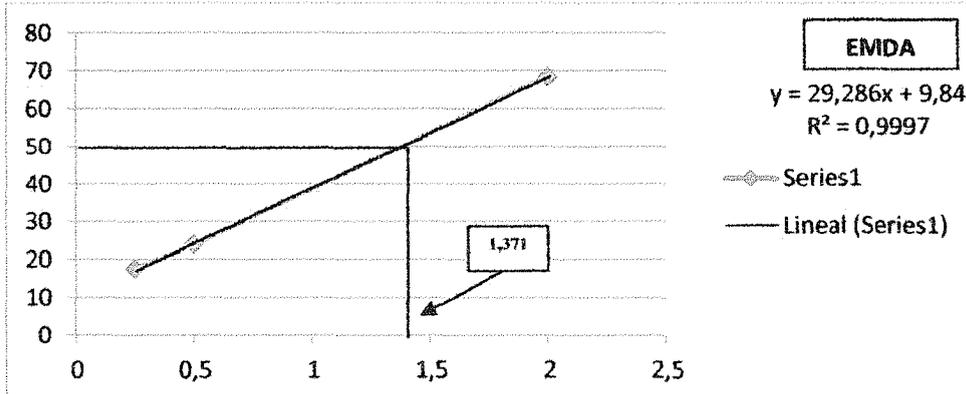
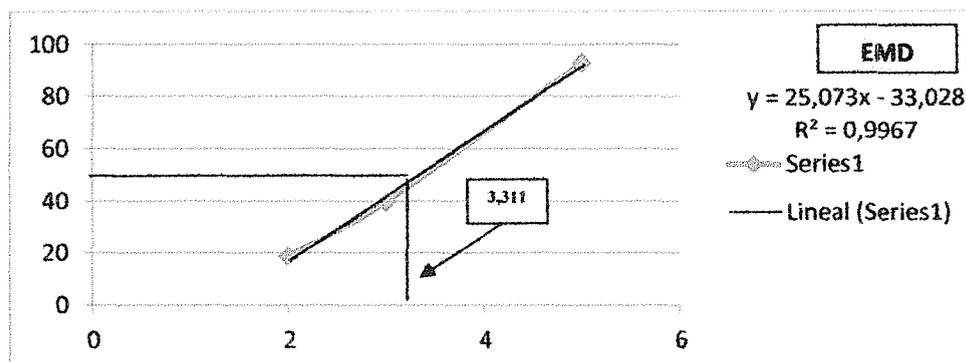


Figura 61. Determinación del porcentaje de reducción medio del DPPH• (IC₅₀) para EMD, EMDA y EMA.

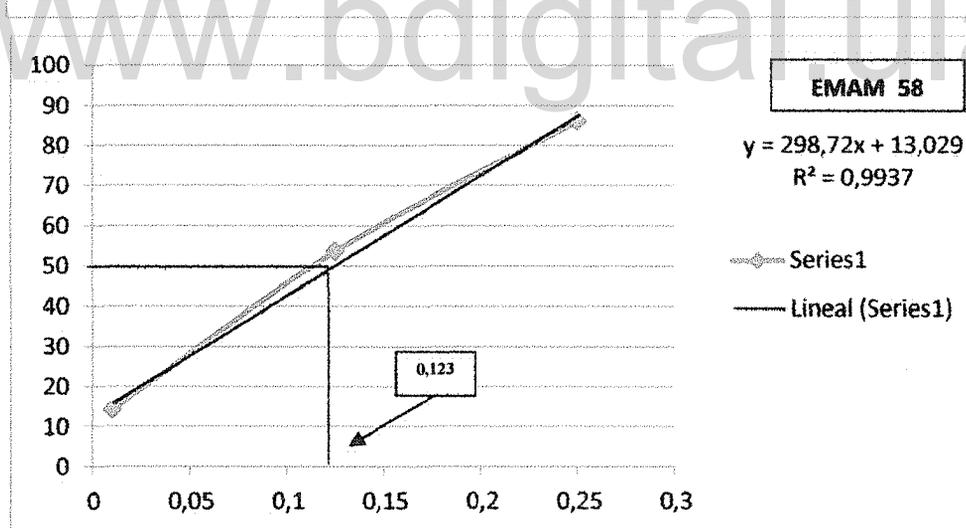
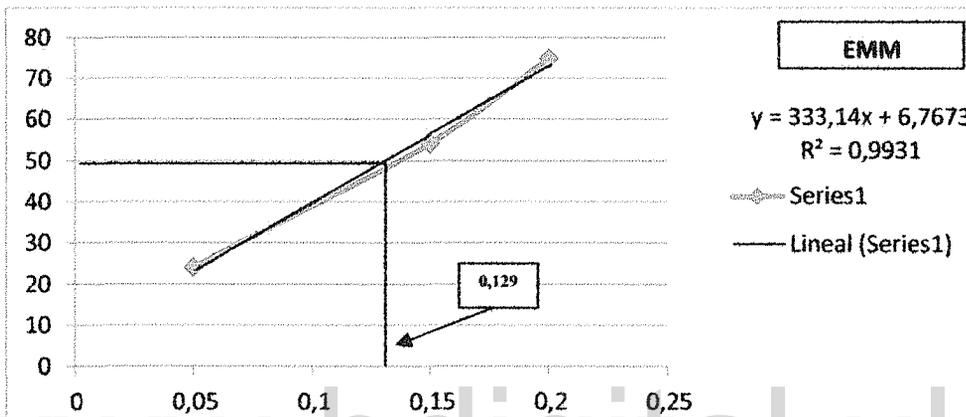
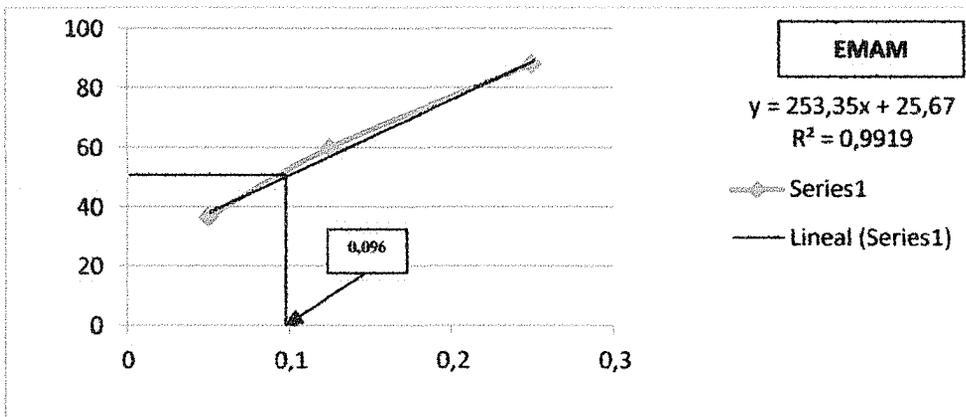


Figura 62. Determinación del porcentaje de reducción medio del DPPH• (IC₅₀) para EMAM, EMM y el compuesto EMAM 58.

7. CONCLUSIONES

Del extracto metanolico de las hojas de *Vismia guianensis* recolectada en el estado Portuguesa se aislaron una variedad de metabolitos secundarios, tales como sesamina, friedelina, vismiaquinona y lupeol, considerados marcadores taxonómicos para el género.

El compuesto friedelano, aislado en esta investigación no ha sido reportado previamente, según las referencias bibliográficas consultadas para el genero *Vismia*; sin embargo, es considerado como un metabolito secundario poco frecuente en la naturaleza ya que en la ruta del acido mevalonico para la obtención del escualeno, precursor de los triterpenos, se requiere de la formación de un epóxido para lograr la ciclación; esta característica particular hace que la posición 3 del nucleo triterpenico de estos compuestos este normalmente oxidado, encontrándose con mayor frecuencia nucleos con oxidación en C₃ que nucleos reducidos.

Cuatro compuestos separados de la especie en estudio, Cafeína (EMD 31), Sulfanilamida (EMA 7), Acetanilida (EMAM 36) y Sulfato de amonio (EMD 90) no presentaron ninguna relación química con los reportados previamente para el género *Vismia*. En el caso de Sulfanilamida, Acetanilida y Sulfato de amonio son componentes de herbicidas y fertilizantes agrícolas que pudieron haber sido usados para el tratamiento de las zonas de cultivo, probablemente de café, lo cual también explica la presencia de la cafeína aislada en esta investigación.

El análisis de citotoxicidad en células derivadas de riñón de embrión de mono Rhesus (MA-104) reveló que tanto el extracto de las hojas en metanol como las fracciones derivadas de éste, eluidas con mezclas de diclorometano/acetato de etilo y metanol, no presentaron citotoxicidad a la máxima concentración de 500 µg/mL (EHM) y 250 µg/mL (EMDA y EMM).

La evaluación de la actividad antibacteriana demostró que EMDA (extracto metanolico eluido con diclorometano/acetato de etilo), EMM (extracto metanolico eluido

con metanol) y el compuesto EMDA 11 (Friedelina), obtenido del extracto en metanol eluido con diclorometano/acetato de etilo presentaron un amplio espectro de inhibición del crecimiento de las bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, así como Gram negativas, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*; mientras que EMDA 30 (Sesamina) obtenido del extracto metanólico eluido con diclorometano/acetato de etilo solo inhibió el crecimiento de las bacterias Gram positivas y EMDA 90 (sulfato de amonio) resultó ser activo únicamente contra bacterias Gram negativas.

Con respecto a la actividad antifúngica los extractos EMD (extracto metanólico eluido con diclorometano), EMA (extracto metanólico eluido con acetato de etilo) y los compuestos EMA 7 (Sulfanilamida), EMAM 36 (Acetanilida) presentaron inhibición del crecimiento de *Candida albicans*, *Candida. krusei* y *Candida. parapsilosis*, importantes patógenos humanos.

En el presente estudio también se demostró el potencial antioxidante tanto de los extractos como de compuestos puros aislados de *Vismia guianensis* observándose que EMAM (extracto metanólico eluido con acetato de etilo/metanol), EMM (extracto metanólico eluido con metanol) y EMA (extracto metanólico eluido con acetato de etilo), revelaron el mayor índice de reducción de radicales libres. Por su parte, el compuesto EMAM 58 (Vismiaquinona) obtenido del extracto metanólico eluido con acetato de etilo/metanol se destacó mostrando una elevada capacidad secuestrante de radicales libres comparable con el ácido ascórbico (control positivo).

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams M, Gmünder F, Hamburger M. **2007**. Plants traditionally used in age related brain disorders-A survey of ethnobotanical literature. *J Ethnopharmacol.* 113: 363 - 381.
2. Albuquerque U, Monteiro J, Ramos M, Cavalcanti E. **2007**. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol.* 110: 76-91.
3. Álvarez E, Jiménez O, Posada C, Rojano B, Gil J, García C, Durango D. **2008**. Actividad Antioxidante y contenido fenólico de los extractos provenientes de las bayas de dos especies del género *Vismia* (Guttiferae). *VITAE.* 15: 165-172.
4. Araujo F, Souza M, Filho R, **1990**. Vismiae folic acid, a new triterpene from *Vochysia Vismiae folia*. *J Nat Prod.* 53: 1436-1440.
5. Aristeguieta L. **1973**. Familias y Géneros de los Árboles de Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Edición Especial del Instituto Botánico. Caracas, Venezuela.
6. Arvind S, Reg F, Enzo A. **2004**. Identification of antimicrobial component of an ethanolic extract of the Australian medicinal plant, *Eremophila duttonii*. *Phytotherapy Research.* 18: 615-618.
7. Bonte F, Meybeck A. **1997**. Composición cosmética o farmacéutica, particularmente dermatológica que contiene un extracto de *Vismia*. Oficina española de patentes y marcas. N° 2102818. Madrid, España.
8. Botta B, Delle Monache G, Delle Monache F, Bettolo M, Oguakwa U. **1983**. 3-geranyloxy-6-methyl-1,8-dihydroxy anthraquinone and Vismiones C, D and E from *Psorospermum febrifugum*. *Phytochemistry.* 22: 539-542.
9. Botta B, Delle Monache F, Delle Monache G, Bettolo M, Menichini F. **1986**. Vismione H and prenilated xanthenes from *Vismia guineensis*. *Phytochemistry.* 25: 1217-1219.
10. Broussalis A, Ferraro G, Martino V, Pinzón R, Coussio J, Alvarez J. **1999**. Argentine plants as potencial source of insecticide compounds. *J Ethnopharmacol.* 67: 219 - 223.
11. Bruneton J. **1991**. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

12. Cámara D, Lemos V, Santos M, Nagem T, Cortes S. **2010**. Mechanism of the vasodilator effect of Euxanthone in rat small mesenteric arteries. *Phytomedicine*. 17: 690 - 692.
13. Camele G, Delle Monache F, Delle Monache G, Martini Bettolo B, Alves de Lima R. **1982**. 2- isoprenylemodin and 5,5'- dimethoxysesamin from *Vismia guaramirangae*. *Phytochemistry*. 21: 417 - 419.
14. Camelo S, Costa R, Ribeiro-Costa R, Ramos W, Vasconcelos F, Santos J, Carrera J. **2011**. Phytochemical evaluation and antimicrobial activity of ethanolic extract of *Vismia guianensis* (aubl.). *IJPSR*. 2(12): 3224-3229.
15. Cárdenas J, Rojas J, Rojas L, Lucena M, Buitrago A. **2012**. Essential oil composition and antibacterial activity of *Monticalia greenmaniana* (Asteraceae). *Natural Product Communications*. 7, 243-244.
16. Cardona M, Fernández I, Pedro J, Seoane E, Vidal R. **1986**. Additional new Xanthones and xanthonolignoids from *Hypericum canariensis*. *J Nat Prod*. 49: 95 - 100.
17. Cassinelli G, Geroni C, Botta B, Delle Monache G, Delle Monache F. **1986**. Cytotoxic and antitumor activity of Vismiones isolated from Vismieae. *J Nat Prod*. 49: 929 - 931.
18. Corey E, Ursprung J. **1956**. Structure of friedelin. *Journal of American Chemical Society*. 78: 5041-5050.
19. Cory A, Owen T, Barltrop J & Cory J. **1991**. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture. *Cancer comm*. 3: 207-212.
20. Cowan M. **1999**. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review*. 12: 564-582.
21. Delle Monache F, Marquina M, Ferrari F, Martini-Bettolo G. **1979**. Ferruginin A and B and Ferruanthrone, New triprenylated anthranoids from *Vismia baccifera* var. *ferruginea*. *Tetrahedron*. 35: 2143 - 2149.
22. Delle Monache G, Gonzales J, Delle Monache F, Marini G. **1980**. Prenylated benzophenones from *Vismia decipiens*. *Phytochemistry*. 19: 2025-2028.

23. Delle Monache F, Marquina M, Delle Monache G, Marini G, De Lima A. **1983**. Xanthonas, xanthololignoids and others constituents of the roots of *Vismia guaramirangae*. *Phytochemistry*. 22: 227 - 232.
24. Delle Monache F, Delle Monache G, Marini Bettolo G, Lyra D, Lwande W. **1984**. Two benzophenones with lavandulyl side Chain from Tovomita mangle G. mariz (Guttiferae). *Gazz Chim Ital*. 114: 55 - 60
25. Delle Monache F, Botta B, Delle Monache G, Marini Bettolo G. **1985**. Prenilated antranoids from *Psorospermum* species. *Phytochemistry*. 24: 1855-1856.
26. Delle Monache F. **1985**. Chemical and biological activity of the secondary metabolites of Vismieae. *Rev Latinoamer Quim*. 16: 5-15.
27. Dewick P. **1997**. Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach. University of Nottingham, UK. *John Wiley & Sons*. West Sussex, England.
28. Dias-Filho M. **1995**. Physiological Responses of *Vismia guianensis* to Contrasting Light Environments. *Research Brazilian Physiology Vegetal*. 7 (1): 35-40.
29. Dimayuga R, Garcia S. **1991**. Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur, México. *J Ethnopharmacol*. 31: 181-182.
30. Doriguetto A, Santos M, Ellena J, Nagem T. **2001**. 6-deoxyjacareubin. *Acta Cryst*. 57: 1095 - 1097.
31. Dos Santos M, Nagem T, Da Silva M, Silva L. **2000**. Xanthonas from *Vismia latifolia*. *J Braz Chem Soc*. 11: 537 - 539.
32. Draelos Z. **2006**. Cosmécéuticos. Elsevier. España 745.
33. Epifano F, Genovese S, Menghini L, Curini M. **2007**. Chemistry and pharmacology of oxyphenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*. 68: 939-953.
34. Estévez Y, Castillo D, Pisango M, Arévalo J, Rojas R, Alban J, Deharo E, Bourdy G, Sauvain M. **2007**. Evaluation of the leishmanicidal activity of plants used by Peruvian Chayahuita ethnic group. *J Ethnopharmacol*. 114: 254 - 259.
35. Ewan J. **1962**. The South American Species of *Vismia* (Guttiferae). *US Nat Muss Contribution from National Herbarium*. 35: 293-361.

36. Fernández F, Costa J. **2006**. Eficacia, seguridad y garantías de un nuevo herbicida para el maíz. *Phytoma-España*. 182: 75-80.
37. Ferrari F, Bettolo M, Maxfield P, Cerrini S, Fedeli W, Gavuzzo E, Vaciago A. **1979**. Vismiones from *Vismia baccifera* var. dealbata. *Gazz Chim Ital*. 109: 301 – 310.
38. Fuller R, Westergaard C, Collins J, Cardellina J, Boyd M. **1999**. Vismiaphenones D-G from *Vismia cayennensis*. *J Nat Prod*. 62: 57-69.
39. Gallo M, Sarachine M. **2009**. Biological activities of Lupeol. *International Journal of biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 3: 46-66.
40. García H. **1992**. Flora Medicinal de Colombia. Tomo II. Editorial Tercer Mundo. Bogotá, Colombia.
41. Gonzalez A, Freire R, Salazar J, Suárez E. **1972**. Quinonas naturales. Antraquinonas de *Isoplexis sceptrum*. *Anales de la Real Sociedad Española de Física y Química*. 68(1): 53-68.
42. Gonzalez J, Delle Monache G, Delle Monache F, Martini G. **1980**. Prenylated benzophenones from *Vismia decipiens*. *Phytochemistry*. 19: 2025-2028.
43. González Y, Peña N, Sanchez R, Santana L. **2001**. Taninos de diferentes especies vegetales en la prevención del fotoenvejecimiento. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*. 20: 16-20.
44. Goncalves M, Mors W. **1981**. Vismiaquinone, Aisopentenyl substituted anthraquinone from *Vismia reirchartiana*. *Phytochemistry*. 20: 1947-1950.
45. Goupy P, Hugues M, Boivin P, Amiot M. **1999**. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 79: 1625-1634.
46. Goupy P, Bautista A, Fulcrand H, Dangles O. **2009**. Antioxidant activity of wine Pigments Derived from Anthocyanins: Hydrogen Transfer Reactions to the DPPH Radical and Inhibition of the Heme-Induced Peroxidation of Linoleic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 5762-5770.

47. Halliwell, B, Gutteridge J. **1990**. The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry Biophysics*. 280: 1-8.
48. Hostettmann K, Wagner H. **1977**. Xanthone Glycosides. *Phytochemistry*. 16: 821.
49. Hussein A, Bozzi B, Correa N, Capson T, Kursar T, Coley P, Solis P, Gupta M. **2003**. Bioactive constituents from three *Vismia* species. *J Nat Prod*. 66: 858-860.
50. Jiménez O, Meneses E, García C, Durango D. **2007**. Caracterización de las propiedades y estabilidad del color de soluciones de los antranoides prenilados Ferruginina A y γ -hidroxiferruginina A. *Rev Colomb Quím*. 36: 227-242.
51. Jung C, Seog H, Choi I, Park M, Cho H. **2006**. Antioxidant Properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. *LWT-Food Science and Technology*. 39: 266-274.
52. Khan M, Ather A, Thompson K, Gambari R. **2005**. Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses. *Antiviral Res*. 67: 107 - 119.
53. Kitanov G, Blinova K. **1987**. Modern state of the chemical study of specie of the genus *Hypericum*. *Chem. Nat. Com*. 2: 151-166.
54. Kuete V, Nguemeving J, Beng V, Azebaze A, Etoa F, Meyer M, Bodo B, Nkengfack A. **2007**. Antimicrobial activity of the methanolic extracts and compounds from *Vismia laurentii* De Wild (Guttiferae). *J Ethnopharmacol*. 109: 372-379.
55. Lastra H, Ponce H. **2001**. *Bidens pilosa* Linné. *Revista Cubana Planta Mdica*. 1: 28-33.
56. Lizcano L, Bakkali F, Ruiz-Larrea M, Ruiz-Sanz J. **2010**. Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. *Food Chem*. 119: 1565-1570.
57. Lizcano L, Vilorio-Bernal M, Vicente F, Berrueta L, Gallo B, Martínez-Cañamero M, Ruiz-Larrea M, Ruiz-Sanz J. **2012**. Lipid Oxidation Inhibitory Effects and phenolic composition of aqueous extracts from medicinal Plants of Colombian Amazonia. *Int. J. Mol. Sci*. 13, 5454-5467.
58. Lopez A, Hudson J, Towers G. **2001**. Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. 77: 189 - 196.

59. Magassouba F, Diallo A, Kouyaté M, Mara F, Mara O, Bangoura O, Camara A, Traoré S, Diallo A, Zaoro M, Lamah K, Diallo S, Cámara G, Traoré S, Keita A, Camara M, Barry M, Kéita S, Oularé K, Barry M, Donzo M, Cámara K, Tote K, Berghe D, Totté J, Pieteres L, Vlientinch A, Baldé A. **2007**. Ethnobotanical Surrey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine. *J Ethnopharmacol.* 114: 44-53.
60. Mahato S, Kundu A. **1994**. ¹³CNMR Spectra of pentacyclic triterpenoids- A compilation and some salient features. *Phytochemistry.* 37(6): 1517-1575.
61. Marcano D, Hasegawa M. **2002**. Fitoquímica Orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
62. Mbaveng A, Kuete V, Nguemeving J, Beng V, Nkengfack A, Meyer J. **2008**. Antimicrobial activity of the extracts and compounds obtained from *Vismia guineensis* (Guttiferae). *Asian J of Traditional Medicines.* 3: 211-223.
63. Ménan H, Banzouzi J, Hocquette A, Pélissier Y, Koné M, Mallié M, Assi L, Valentin A. **2006**. Antiplasmodial activity and cytotoxicity of plants used in west African traditional medicine for the treatment of malaria. *J Ethnopharmacol.* 105: 131-136.
64. Miraglia M, Mesquita A, Varejão M, Gottlieb O, Gottlieb. **1981**. Anthraquinones from *Vismia* Species. *Phytochemistry.* 20: 2041-2042.
65. Monacelli B, Pasqua G, Cuteri A, Vitali A. **1999**. *In vitro* plants regeneration of *Vismia guianensis* through organogenesis. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 58: 81-85.
66. Mouffok S, Haba H, Lavaud C, Long C, Benkhaled M. **2012**. Chemical constituents of *Centaurea omphalotricha* Coss. Durieu ex Batt. *Records of Natural Products.* 6(3): 292-295.
67. Nagem T, de Oliveira F., **1997**. Xanthonés and other constituents of *Vismia parviflora*. *J. Braz. Chem. Soc.* 8 (5): 505-508.
68. Nagen J, Faustino F. **1997**. Xanthonés and Other Constituents of *Vismia parviflora*. *J Braz Chem Soc.* 8: 505 - 508.
69. Nagen J, de Jesús T. **1990**. Quinoids and other constituents of *Vismia martiana*. *Phytochemistry.* 29: 3362-3364.

70. Nguemeving J, Azebaze A, Kuete V, Carly N, Beng P, Meyer M, Blond A, Bodo B, Nkengfack A. **2006**. Laurentixanthonones A and B, antimicrobial xanthonones from *Vismia laurentii*. *Phytochemistry*. 67: 1341-1346.
71. Nougoué D, Antheaume C, Chaabi M, Ndjakou B, Ngoule S, Lobstein A, Tsamo E. **2008**. Anthraquinones from the fruits of *Vismia laurentii*. *Phytochemistry*. 69: 1024 - 1028.
72. Nougoué D, Chaabi M, Nougoué S, Antheaume C, Boyom F, Gut J, Rosenthal P, Lobstein A, Tsamo E. **2009** Antimalarial Compounds from the Stem Bark of *Vismia laurentii*. *Z Naturforsch*. 64: 210 - 214.
73. Oliveira A. **1992**. Efeito de substâncias isoladas do extrato aquoso das folhas de *Maytenus ilicifolia* M. (Espinheira Santa) sobre a secreção gástrica de ácido. XII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. Curitiba-Paraná.
74. Pasqua G, Monacelli B, Cuteri A, Spuntarelli F, Rascio N, Botta B, Delle Monache G, Scurria R. **1995**. Accumulation of Vismione A in regenerated plants of *Vismia guianensis*. *Protoplasma*. 189: 9-16.
75. Pelter, A., **1979**. The mass spectra of oxygen heterocycles. Part IV. The mass spectra of some complex lignans. *Journal Chemical Society*. (C): 1376-1380.
76. Peres A. **1978**. *Plantas útiles de Colombia* 4th ed. Litografía Arco. Bogotá, Colombia.
77. Peres V, Nagen T. **1997**. Trioxygenated naturally occurring xanthonones. *Phytochemistry*. 44: 191-214.
78. Peres V, Nagen T, Faustino F. **2000**. Tetraoxygentaed naturally occurring xanthonones. *Phytochemistry*. 55: 683 - 710.
79. Pereira S, Silva R, Ribeiro R, Ramos W, Vasconcelos F, Santos J, Carrera J. **2011**. Phytochemical evaluation and antimicrobial activity of ethanolic extract of *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy. *IJPSR*. 2: 3224-3229.
80. Pereira S, Silva R, Ribeiro R, Ramos W, Vasconcelos F, Santos J, Carrera J. **2012**. Anatomical characterization and microchemistry of *Vismia guianensis* (aubl.) choisy. *IJPSR*. 3: 1312-1317.

81. Pinheiro R, Mac-Quhae M, Bettolo M, Delle Monache F. **1984**. Prenylated antranoids from *Vismia species*. *Phytochemistry*. 23: 1737 - 1740.
82. Promega Corporation. **1978**. *Cell Proliferation Assay Technical*, Madison, Wisconsin, USA. *Bulletin* N° 169.
83. Rangel D, García I, Velasco J, Buitrago D, Velazco E. **2001**. Actividad antimicrobiana de los extractos etanólico, acetónico y acuoso de *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon) Pers. *Revista de la Facultad de Farmacia*. 42, 43-46.
84. Reyes R, Huerta M. **2009**. Compuestos naturales de plantas de la Familia Clusiaceae: Inhibidores del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1. *Interciencia*. 34: 385-392.
85. Rojas J, Buitrago A, Rojas L, Morales A. **2010** Essential Oil Composition of *Vismia macrophylla* Leaves (Guttiferae). *Nat Prod Comm*. 6: 85 - 86.
86. Rojas J, Buitrago A, Rojas L, Morales A, Lucena M, Baldovino S. **2011**. Essential oil composition and antibacterial activity of *Vismia baccifera* fruits collected from Mérida, Venezuela. *Nat. Prod. Commun*. 6: 699-700.
87. Ruyschaert S, Andel T, Van de Putte K, Van Damme P. **2009**. Bathe the baby to make it strong and healthy: Plant use and child care among saramaccan maroons in Suriname. *J Ethnopharmacol*. 121: 148-170.
88. Sadaquat A, Goundar R, Sotheeswaran S, Beaulieu C, Spino C. **2000**. Benzophenones of *Garcinia pseudoguttifera* (Clusiaceae). *Phytochemistry*. 53: 281-284.
89. Salas F, Velasco J, Rojas J, Morales A.; **2006**. Antibacterial activity of the crude extract and constituents of *Vismia baccifera* var. *dealbata* (Guttiferae) Collected in Venezuela. *Nat Prod Comm*. 2: 185-188.
90. Salas F, Ciangherotti C, Salazar-Bookaman M, Rojas J, Morales A. **2007**. Toxicidad aguda y actividad analgésica del extracto acuoso de hojas de *Vismia baccifera* var. *dealbata* (Guttiferae) en animales de experimentación. *Rev Fac Farm*. 49: 5-9.
91. Salas F, Rojas J, Morales A, Ramos-Nino M. **2008**. In vitro Cytotoxic Activity of Sesamin Isolated from *Vismia baccifera* var. *dealbata* Triana & Planch (Guttiferae) Collected from Venezuela. *Nat Prod Comm*. 3: 1705-1708.

92. Salvat Editores, S. A. **2002**. Gran Enciclopedia Salvat. Tomos XXVI Barcelona, España.
93. Sanz-Biset J, Campo de la Cruz J, Epiquien M, Cañigüeral S. **2009**. A First Survey on the medicinal Plants of the chazuta valley (Peruvian–Amazonan). *J Ethnopharmacol.* 122: 333 - 362.
94. Schnee L. **1960**. Plantas Comunes de Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía. S/V: 359-360.
95. Seo E, Wani M, Wall M, Navarro H, Mulkherjee R, Farnsworth N, Kinghorn D. **2000**. New bioactive aromatic compounds from *Vismia guianensis*. *Phytochemistry.* 55: 35-42.
96. Sibanda S, Nyanyira C, Nicoletti M, Galeffi C. **1993**. Vismiones L and M from *Ochna pulchra*. *Phytochemistry.* 24: 1650 - 1652.
97. Silvestre R, Moraes M, Lins A, Ralph M, Lima- Filho J, Camara C, Silva T. **2012**. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil from *Vismia guianensis* fruits. *African Journal of Biotechnology.* 11: 9888-9893.
98. Simmonds M, Blaney W, Delle Monache F, Marquina M, Marini Bettolo G. **1985**. Insect antifeedant propierties of anthanoids from the genus *Vismia*. *J Chem Ecol.* 11: 1593.
99. Stern J, Hargerman A, Steinberg P, Mason P. **1996**. Phorotannin-protein interactions. *Journal of Chemical Ecology.* 22: 1887-1899.
100. Suffredini I, Paciencia M, Varela A, Younes R. **2007**. *In vitro* cytotoxic activity of Brazilian plant extracts against human lung colon and CNS solid cancers and leukemia. *Fitoterapia.* 78: 223-226.
101. Tamokou J, Tala M, Wabo H, Kuate J, Tane P. **2009**. Antimicrobial activities of methanol extract and compounds from stem bark of *Vismia rubescens*. *J Ethnopharmacol.* 124: 571-575.
102. Valadeau C, Pabón A, Deharo E, Albán J, Estévez Y, Lores F, Rojas R, Gamboa D, Sauvain M, Castillo D, Bourdy G. **2009**. Medicinal plants from the Yanasha (Peru): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. *J Ethnopharmacol.* 123: 413-422.

103. Valadeau C, Castillo J, Sauvain M, Lores A, Bourdy G. **2010**. The rainbow hurts my skin: Medicinal concepts and plants uses among the Yanasha (Amuesha), and Amazonian Peruvian ethnic group. *J Ethnopharmacol.* 127: 175-192.
104. Velasco, J., Barreto, S., Buitrago, D., Vivas, R. **2006**. Antimicrobial activity of extras from *Ageratina neriifolia* (Asteraceae). *Ciencia.* 14, 411-414.
105. Vizcaya M, Morales A, Rojas J, Nuñez R. **2013**. Revisión bibliográfica sobre la composición química y actividades farmacológicas del género *Vismia* (Guttiferae). *Blacpma.* 11 (1): 12-34.
106. World Health Organization.1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticide. WHO/VBC/81.807.
107. Zacaria H, Apers S, Moshi M, Kapingu M, Van Miert S, Claeys M, Brun R, Cos P, Pieters L, Vlietinck A. **2004**. Anthranoids compounds with antiprotozoal activity from *Vismia orientalis*. *Planta Med.* 70: 706-710.

Referencias electrónicas:

www.theplantlist 2013 (consultado el 20 de octubre de 2013)

www.espatentes.com (consultado el 16 de septiembre de 2014)

www.smart-fertilizer.com (consultado el 16 de septiembre de 2014)

www.complexargentina.com (consultado el 16 de septiembre de 2014)

www.bdigital.ula.ve

Anexos

Artículo Original

Evaluación de la actividad antibacteriana y efecto citotóxico de extractos obtenidos de la especie *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. (Hypericaceae).

Antibacterial activity and cytotoxic effect assessment of extracts obtained from *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. (Hypericaceae).

Nuñez Richard¹, Rojas Janne^{1*}, Lucena María², Roa Ana³, Meléndez Pablo⁴.

¹Grupo de Investigación "Biomoléculas Orgánicas", Instituto de Investigaciones Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

²Departamento de Bioanálisis Clínico. ³Departamento de Microbiología y Parasitología. ⁴Herbario MERF. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida - República Bolivariana de Venezuela.

Recibido enero 2013 - Aceptado diciembre 2013

RESUMEN

En el presente estudio se demostró el potencial antibacteriano de amplio espectro que presentan las fracciones obtenidas con solventes entre mediana y alta polaridad de la especie *Vismia guianensis*, observándose inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), con valores de concentración inhibitoria mínima (CIM) entre 1 y 10 mg/mL. El análisis de citotoxicidad mostró que a la concentración de 250 µg/mL no se alteran las células derivadas de riñón de embrión de mono Rhesus (MA-104 ATCC N° CRL-2378), por lo que se consideran útiles como posibles agentes antibacterianos.

PALABRAS CLAVE

Actividad antibacteriana, citotoxicidad, *Vismia guianensis*, Hypericaceae, extractos.

ABSTRACT

In the present study the wide range of antibacterial activity present in fractions obtained from *Vismia guianensis* with medium to high polarity solvents was probed, exhibiting growth inhibition on *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), with minimum inhibitory concentration (MIC) values

between 1 to 10 mg/mL. Cytotoxic analysis showed that a concentration of 250 µg/mL, cells derived from monkey Rhesus (MA-104 ATCC N° CRL-2378) embryo kidney, did not show any alteration, considering these samples as possible antibacterial agents.

KEY WORDS

Antibacterial activity, cytotoxicity, *Vismia guianensis*, Hypericaceae, extracts.

INTRODUCCIÓN

La Familia Hypericaceae comprende unos 50 géneros y 1200 especies. Son en su mayoría árboles y arbustos, aunque incluye también plantas trepadoras y epifitas. Su distribución es cosmopolita, aunque centrada en los trópicos [1]. El género *Vismia* comprende cerca de 21 especies, reportándose hasta el momento 9 en Venezuela, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en todo el territorio [2]. Por su parte, la especie *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. se localiza principalmente en los estados Bolívar, Amazonas (Puerto Ayacucho), Portuguesa y Sucre [2,3]. En la medicina tradicional esta especie ha sido utilizada como laxante, antipirético, antirreumático y para tratar algunas infecciones de transmisión sexual [4-7]. En investigaciones previas se ha descrito que el látex y los extractos de hojas, frutos y tallos de *V. guianensis* presentan diversas bioactividades: cicatrizante [8], citotóxica frente a líneas celulares cancerosas de pulmón, colon y sistema nervioso central [9], antioxidante [10], anticancerosa [11],

*Correspondencia al autor: janmer@ula.ve

Estudios fitoquímicos reportados para diferentes especies de *Vismia*

Las especies del género *Vismia*, pertenecientes a la familia Clusiaceae (Guttiferae), se presentan como árboles y arbustos de amplia distribución principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de América Central y del Sur. Han sido empleadas en la medicina tradicional para el tratamiento de heridas, ulceraciones, herpes, así como, purgante y febrífugo, entre otras. Son conocidas como fuentes de metabolitos secundarios tales como; xantonas, benzofenonas, cumarinas y flavonoides. Particularmente, la presencia de xantonas, es de gran importancia, ya que estas poseen actividad antidepresiva, antituberculosa, antimicrobiana, antiviral y cardiotónica. En la continua búsqueda de sustancias con potencial biológico, el presente trabajo describe los estudios fitoquímicos y análisis de diferentes actividades biológicas reportados para diversas especies del género *Vismia*.



www.bdigital.ula.ve

Richard Nuñez

Farmacéutico, profesor de la asignatura Farmacoterapéutica y estudiante del Doctorado en Química de Medicamentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Janne del Carmen Rojas Vera, Farmacéutica, MSc en Química de Medicamentos, PhD en Productos Naturales, Profesora Titular adscrita al Instituto de Investigaciones, Universidad de Los Andes, Venezuela.

Richard Nuñez · Janne Rojas

Estudios fitoquímicos reportados para diferentes especies de *Vismia*

Familia Clusiaceae (Guttiferae)



978-3-659-07025-9

editorial académica española



La República Bolivariana de Venezuela
a través del Ministerio del Poder Popular para
Ciencia, Tecnología e Innovación

Otorga el presente
Certificado a

Richard David Núñez Morales

Ha Participado en Calidad de Ponente en el Simposio Titulado:
APORTES CIENTÍFICO-TECNOLÓGICOS DE INVESTIGADORES NOVELES EN LA

REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA

José Luis Berroterán
Viceministro de Formación para
la Ciencia y el Trabajo

Santiago Ramos
Comité Científico

Caracas, 7 al 10 de noviembre 2013





CONGRESO ITALO-LATINOAMERICANO DE ETNOMEDICINA
TUNISIA - MENA EL BIHA, RICA, 2 al 6 de SEPTIEMBRE 2013



DEPARTAMENTO DE BIQUÍMICA
ESCUELA DE MEDICINA



XXII CONGRESO ITALO-LATINOAMERICANO DE ETNOMEDICINA
XXII CONGRESSO ITALO-LATINOAMERICANO DI ETNOMEDICINA
XXII ITALO-LATINAMERICAN CONGRESS OF ETHNOMEDICINE
"Hernán Arguedas"

Puntarenas, Costa Rica, 2 al 6 de septiembre de 2013

CONSTANCIA

Por este medio, hacemos constar que durante el **Congreso Italo-latinoamericano de Etnomedicina**, organizado por la *Universidad de Costa Rica* y la *Sociedad Italo-latinoamericana de Etnomedicina* del 2 al 6 de setiembre del 2013, la señora(ita) **María Eugenia Lucena de Ustariz** presentó la ponencia titulada: **"EVALUACIÓN DE LAS ACTIVIDADES CITOTÓXICA Y ANTIBACTERIANA EN EXTRACTOS OBTENIDOS DE LA ESPECIE *Vismia guianensis* (Aubl) Choisy (CLUSIACEAE)"**, en la modalidad Poster, de autoría compartida con: **Richard Nuñez, Janne Rojas, Ana Roa y Pablo Meléndez**.

Extendida en la ciudad de Puntarenas, Costa Rica, a los 6 días del mes de setiembre del año dos mil trece



Dra. Silvia Quesada Mora
Coordinadora Comité Organizador
CONGRESO-SILAE 2013
Universidad de Costa Rica

www.ahce-medicina.com congresosilae2013.uicr.edu.cr