



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”**



**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE
*Allamanda cathartica***

**Trabajo especial de grado presentado como requisito para optar al
título de Licenciada en Bioanálisis**

www.bdigital.ula.ve

Autora: Maria Carolina Acevedo Parra

CI: V-24.196.314

Tutor(a): Alida Pérez Colmenares

Mérida, enero 2024

DEDICATORIA

A mi Dios todo poderoso por darme salud, cuidarme, guiarme y levantarme en mis continuos tropiezos, gracias por llenarme de fuerzas para vencer todos los obstáculos.

A mis padres quienes me han modelado con el ejemplo, son mi inspiración, gracias por siempre apoyarme en mi educación y crecimiento profesional, gracias mami por escucharme durante horas mientras estudiaba, gracias por el amor y la paciencia día tras día, a mi papá que aún en la distancia siempre estuvo presente ¡los amo!
A mis abuelos, son mi motor en esta vida, gracias por estar en este largo camino, son el arcoíris de los días grises.

A mi familia por siempre apoyarme y motivarme, en especial a mis tías Sonya, Ysmelda y Marleni, las amo gracias por las palabras de aliento y ese amor incondicional, a mis primas que las amo como hermanas, a Isa por ser mi cómplice a la distancia y siempre recordarme que tengo alas cuando se me dificulta hasta caminar.

A mi persona vitamina Nicolás gracias por ser refugio en los días caóticos, a mis amigos que me acompañaron en este camino: Anna, Thalia, Thaili, Gaby, Estefanía, Jennifer, Seniel, Humbert, Betania, Oriana y todos los que coincidimos en esta maravillosa carrera, fue un honor compartir con ustedes, colorearon mis días. Gracias por todos los momentos, risas, consejos y ofrecerme un hombro cuando lo necesite.

A puppy mi compañero más fiel y el encargado oficial de inyectarme una dosis de alegría al llegar casa.

¡Gracias miles!

Nunca dejen de soñar

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento A la ilustre Universidad de los Andes por ser casa de formación académica y ayudarnos a construir un mejor futuro.

A la Dra Alida Perez, Dra Ysbelia Obregon, Dra. Rosa Aparicio y al instituto de investigaciones "Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro" por el apoyo y aporte para este trabajo de investigación.

Al Prof. José Gregorio Hernández Pérez por ser guía y motivarnos siempre a la excelencia.

www.bdigital.ula.ve

INDICE DE CONTENIDO

	Pág
ÍNDICE DE TABLAS.....	iii
INDICE DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN.....	6
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA.....	8
Planteamiento del Problema.....	8
Justificación de la Investigación.....	10
Objetivos de la Investigación.....	12
Objetivo General	12
Objetivos Específicos	12
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	13
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	14
Trabajos Previos.....	14
Antecedentes históricos.....	18
Bases Teóricas.....	19
Generalidades de Familia Apocynaceae.....	20
Generalidades de Género <i>Allamanda</i>	25
Generalidades especie <i>Allamanda cathartica</i>	28
Radicales Libres.....	30
Fuente de Radicales Libres.....	31
Acciones Biológicas de los Radicales Libres.....	32
Antioxidantes.....	33
Importancia de los Antioxidantes.....	34
Características de los Antioxidantes.....	34
Función Fisiológica de los Antioxidantes.....	35
Clasificación de los Antioxidantes.....	36

ÍNDICE DE CONTENIDO

(CONTINUACIÓN)

	Pág
Operacionalización de las Variables.....	38
Hipótesis.....	39
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO.....	40
Tipo de Investigación.....	40
Alcance de la Investigación.....	40
Diseño de la Investigación.....	41
Población y Muestra.....	41
Sistema de Variables.....	41
Instrumentos de Recolección de Datos.....	40
Procedimientos de la Investigación.....	42
Obtención del Extracto	44
Análisis Fitoquímico Preliminar	45
Actividad inhibitoria del DPPH.....	46
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
Resultados.....	47
Discusión.....	50
CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	53
Conclusiones.....	53
Recomendaciones.....	55
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRAFICAS	65

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Variable Dependiente Actividad Antioxidante de <i>Allamanda cathartica</i>	60
Tabla 2. Variable Independiente Composición química de <i>Allamanda cathartica</i>	61
Tabla 3. Pruebas de tamizaje fitoquímico.....	73
Tabla 4. Reporte ilustrado extractos de las hojas de <i>A. cathartica</i> .	74
Tabla 5. Actividad Antioxidante <i>in vitro</i> por el método DPPH.....	76
Tabla 6. Curva de Calibración con Ácido Ascórbico.....	76
Tabla 7. Concentración Inhibitoria Media (CI ₅₀).....	77

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Alcaloides de la familia Apocynaceae.....	14
Figura 2. Flavonoides de la familia Apocynaceae.....	15
Figura 3. <i>Allamanda blanchetii</i>	16
Figura 4. <i>Allamanda cathartica</i>	17
Figura 5. Compuestos fenólicos de <i>A. cathartica</i>	18
Figura 6. Estructuras de los alcaloides de <i>A. cathartica</i>	19
Figura 7. Esteroides y terpenos de <i>A. cathartica</i>	19
Figura 8. Estructuras de un carbohidrato de <i>A. cathartica</i>	20
Figura 9. Alcaloide.....	26
Figura 10. Estructura química de Quinona.....	27
Figura 11. Estructura química de la Saponina.....	27
Figura 12. Estructura química de un terpeno.....	28
Figura 13. Estructura química de cumarina.....	29
Figura 14. Estructura química de un Flavonoide.....	30
Figura 15. Curva de Calibración con Ácido Ascórbico	61
Figura 16. Determinación de la CI_{50} del extracto de etanol de las hojas de <i>Allamanda cathartica</i>	62 62



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”



ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE
Allamanda cathartica

Autora: Maria Carolina Acevedo

Tutor: Alida Pérez Colmenares

RESUMEN

En la presente investigación se determinó la actividad antioxidante y la composición química de las hojas de *Allamanda cathartica*. La actividad antioxidante fue establecida *in vitro* mediante el método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo con un porcentaje de inhibición fue 86,667 % para el extracto etanólico, con una concentración inhibitoria media de 31,196 µg/mL. La composición química se comprobó a través de pruebas químicas de coloración y/o precipitación. En el extracto de hexano no se evidenció la presencia de ninguno de los metabolitos evaluados. Por otra parte, los alcaloides y esteroides están presentes en los extractos de diclorometano y etanol, adicionalmente el extracto etanólico mostró la presencia de compuestos fenólicos y saponinas. En tal sentido, se considera que *Allamanda cathartica* es una fuente de metabolitos secundarios con propiedades antioxidantes y puede ser una alternativa terapéutica para tratar diversas patologías causadas por los radicales libres.

Palabras clave: *Allamanda cathartica*, actividad antioxidante, tamizaje fitoquímico.

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad la mayoría de los medicamentos utilizados para controlar, neutralizar o evitar enfermedades que afectan al cuerpo humano, tienen como principio activo algunos metabolitos provenientes de las plantas. Diversas especies vegetales son utilizadas para mejorar la salud en los seres humanos ya que contienen un amplio grado de compuestos y una gran variedad de propiedades medicinales, entre las que se puede mencionar la propiedad antioxidante (Rojo, 2015).

El uso de las plantas radica en la prevención y cura de enfermedades en las sociedades desde tiempos remotos. La protección que brindan contra las patologías provocadas por la excesiva oxidación, impide diversos daños en el organismo con una mayor incidencia en enfermedades degenerativas, debido al efecto reductor del contenido antioxidante. Venezuela es un país en el que el uso de especies medicinales es una práctica muy común, con el fin de rehabilitar diversas enfermedades (Phillips, 2002). Debido al importante papel de los antioxidantes en el cuerpo humano, el presente estudio se orienta a determinar la composición química y la actividad antioxidante de las hojas de *Allamanda cathartica*.

En relación a lo expuesto anteriormente, el presente trabajo de investigación se ha estructurado de la siguiente manera: Capítulo I, denominado El Problema, contiene los siguientes elementos: Planteamiento del Problema, Justificación y Objetivos de la Investigación. Capítulo II, llamado Marco Teórico abarca: Antecedentes, Bases Teóricas, Operacionalización de variables e Hipótesis. Capítulo III, titulado Marco Metodológico comprende los siguientes puntos: Tipo y Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Instrumento de Recolección de Datos y Procedimientos de la Investigación. Capítulo IV, Resultados y Discusión.

Capítulo V, Conclusiones y Recomendaciones, Referencias
bibliohemerográficas.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Los radicales libres en grandes cantidades, pueden causar daño celular, este proceso es conocido como "estrés oxidativo". Los suplementos antioxidantes gozan de una gran aceptación para prevenir el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, el Alzheimer y otras dolencias crónicas. Se estima que el 20-40 % de la población en Europa y EE UU consume estos complementos dietéticos, y que en España esta proporción es menor del 10 % (Conrad, Dike y Agbara, 2013).

Los antioxidantes son compuestos químicos que el cuerpo humano utiliza para eliminar radicales libres, siendo estas sustancias muy reactivas, actúan introduciendo oxígeno en las células y producen la oxidación de sus diferentes partes, alteran el ADN y cambian diversos factores que aceleran el envejecimiento del cuerpo (Richter, 1979).

La flora venezolana ofrece una gran oportunidad para el descubrimiento de nuevos compuestos naturales, especialmente en aquellas zonas como Los Andes, Los Llanos y el Amazonas; ya que en estas áreas las plantas están sometidas a una intensa radiación ultravioleta y una alta concentración de oxígeno. En este sentido, los efectos nocivos de los radicales libres producidos por la degeneración natural del ser humano, son neutralizados por antioxidantes naturales (Rojo, 2015). No obstante, el mecanismo por el que los radicales libres producen sus efectos transcurre mediante una reacción en la que se forman especies reactivas oxigenadas. Este proceso se ve favorecido por la presencia de oxígeno y de luz ultravioleta en las plantas, lo que inicia la

formación de metabolitos secundarios con propiedades antioxidantes (Cantú, 2017).

Asimismo, la utilización de sustancias antioxidantes permite que no se produzcan las especies reactivas, de forma que se impiden las consecuencias de los radicales libres. Estos metabolitos actúan principalmente en reacciones de terminación de cadenas de radicales libres, impidiendo la oxidación de lípidos y otras moléculas cediendo átomos de hidrógeno de forma que se neutralizan los radicales libres. Por lo cual, los antioxidantes son sustancias capaces de neutralizar la acción oxidativa de los radicales libres, mediante la liberación de electrones en la sangre, los que son captados por los radicales libres manteniendo su estabilidad (Phillips, 2002).

Por tal razón, la presente investigación se enfocó en determinar la actividad antioxidante y la composición química de *Allamanda cathartica* como posible alternativa terapéutica y en beneficio de los procesos de defensa antioxidante en los tejidos del cuerpo humano, todo esto con el fin prevenir los efectos degenerativos prematuros producto de los radicales libres. Basándose en lo expuesto, se plantea la siguiente interrogante:

¿Cuál será la relación entre la composición química y la actividad antioxidante de los extractos de las hojas de *Allamanda cathartica* frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo?

Justificación de la Investigación

Las plantas con propiedades antioxidantes contribuyen mediante sus metabolitos secundarios a neutralizar los radicales libres, siendo este un papel determinante para evitar el desarrollo y mantenimiento de estrés oxidativo. No obstante, la ingesta de antioxidantes es esencial para mantener la salud de las personas ya que su principal función es reducir el estrés oxidativo (un problema que se agrava con la edad). Innumerables textos recomiendan el consumo de antioxidantes, sin embargo, es necesario enfatizar sobre su procedencia y sobre todo lo que se debe hacer para incorporar en el organismo estos agentes naturales que se encargan de proteger el tejido y las células del cuerpo (Venereo, 2002).

Cabe destacar que los antioxidantes son compuestos sintetizados por las plantas en sus diferentes partes (frutos, hojas, tallos, raíces, entre otros), caracterizadas por poseer grupos hidroxilos unidos entre sí por anillos bencénicos. Se debe comprender que el organismo está constantemente luchando contra los radicales libres, ya que estos se acumulan en el cuerpo a lo largo de los años y son producidos mayormente por contaminantes externos que lo penetran como consecuencia de la contaminación ambiental, por ejemplo, el humo expulsado por los vehículos ya que este contiene hidrocarburos (Cantú, 2017).

Es fundamental en la alimentación incluir alimentos derivados de plantas ricas en antioxidantes, ya que al ser ingeridos protegen de manera eficaz la salud de quien lo consume previniendo; el cáncer, el infarto del miocardio, el ictus, los procesos neurodegenerativos, daños en sistema inmunológico, enfermedades en la piel (Yeager, 2001).

Por otra parte, los procesos degenerativos del ser humano están relacionados con la edad, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en las personas, sin distinción de género, a partir de los 20 años existe un descenso en la producción de la hormona de crecimiento, y según la OMS a partir 35 años comienza la degradación natural de los procesos funcionales del organismo ya que el funcionamiento metabólico normal genera especies reactivas de oxígeno, tales como; el estrés oxidativo, desordenes inmunes y pérdida de colágeno (OMS, 2019).

En este sentido, se ha reportado que *Allamanda cathartica* posee diversas actividades biológicas, sus hojas contienen triterpenos esterificados con actividad antitumoral y poseen propiedades antivirales. También se ha constatado que reduce riesgo de padecer enfermedades en la piel, ya que *A. cathartica* entre sus diversas propiedades contiene ácido ursólico lo que mejora y refuerza el colágeno cutáneo, lo que conlleva a una mayor elasticidad de la piel y la optimiza en el aspecto de las arrugas y el aspecto de las manchas (Cantú, 2017). Se entiende entonces, que los componentes de *Allamanda cathartica* pueden evitar los daños causados por el estrés oxidativo, ya que *A. cathartica* estimula los procesos defensa antioxidante, siendo esta una justificación fundamental para la elaboración de la presente investigación (Cantú, 2017).

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación entre la composición química y la actividad antioxidante de los extractos de las hojas *Allamanda cathartica* de frente al radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo.

Objetivos Específicos

Obtener los extractos hexano, diclorometano y etanol de las hojas de *A. cathartica* mediante la técnica de reflujo.

Identificar a través de pruebas químicas de coloración y/o precipitación los metabolitos secundarios presentes en los extractos de las hojas *A. cathartica*.

Determinar la actividad antioxidante y la concentración inhibitoria media del extracto de etanol frente al radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH).

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

El logro de esta investigación está relacionado con el aporte científico sobre el conocimiento de la actividad antioxidante de *Allamanda cathartica*, la cual resulta una alternativa terapéutica que involucra de manera significativa la disminución de la involución natural del cuerpo humano causado por el estrés oxidativo debido a los efectos que posee como agente antioxidante.

Limitaciones de la Investigación

Las limitaciones estuvieron constituidas por factores externos al equipo de investigadores, convirtiéndose en obstáculos que se presentaron durante el desarrollo de la investigación; estas limitaciones se reflejaron en los elevados costos de los reactivos, fallas de electricidad, internet, agua y transporte.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Tun, Lae, Win y Ngwe (2020) realizaron una investigación cuyo objetivo fue aislar los compuestos bioactivos de los tallos de *Allamanda cathartica* L. (Shwewa-pan) e investigar algunas actividades biológicas. Según las pruebas fitoquímicas, en los extractos etanólicos (EE) y acuosos (EA) de los tallos se encontró presencia de alcaloides, flavonoides, terpenoides, esteroides, glucósidos, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, saponinas, taninos y carbohidratos. Los extractos EE y EA presentaron un contenido de fenoles totales de $31,98 \pm 0,94$ mg EAG/g de (equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto) y $18,91 \pm 0,53$ mg EGA/g, respectivamente. Por otra parte, el contenido total de flavonoides fue de $226,67 \pm 8,50$ mg EQ/g (equivalentes de quercetina por gramo de extracto) para el EE y de $100,67 \pm 9,29$ mg QE/g para el EA. Mediante métodos cromatográficos se aisló un compuesto que fue elucidado por técnicas espectroscópicas como 2,5,7-trihidroxi-3-(4-hidroxifenil)-4H-cromen-4-ona. La actividad antioxidante de los extractos fue determinada por el ensayo de captación de radicales libres del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) con una concentración inhibitoria media (CI_{50}) de $10,97 \mu\text{g/mL}$ para el EE y de $68,37 \mu\text{g/mL}$ para el EA.

Esta investigación se relaciona a través de las pruebas químicas para la obtención de los metabolitos secundarios presentes en los extractos de *A. cathartica*. La cual sirvieron de bases teóricas para la implementación experimental del presente estudio, además de encontrar resultados similares en cuanto a la parte fitoquímica de *A. cathartica*.

Vera y Abarca (2019), realizan una revisión donde exploran el conocimiento actual sobre la fitoquímica y las evaluaciones *in vitro* e *in vivo* de los extractos y, en su caso, de los principales componentes activos caracterizados y aislados de *Allamanda cathartica*. De las 15 especies de *Allamanda*, la mayoría de los estudios fitoquímicos, farmacológicos y toxicológicos se han centrado en *A. cathartica*. Se utilizan para el tratamiento de diversos trastornos de salud. Numerosas investigaciones fitoquímicas de la especie *A. cathartica* han demostrado la presencia de hidrocarburos, alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos, cetonas, ácidos grasos, fosfolípidos, compuestos volátiles, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, esteroides, terpenos, lactonas y carbohidratos. Varios estudios han confirmado que los extractos de etanol y principios activos aislados de *A. cathartica* tienen múltiples actividades farmacológicas. La especie *A. cathartica* se ha convertido en una fuente de medicina tradicional utilizada para la salud humana. Se recomiendan más estudios sobre las propiedades fitoquímicas, farmacológicas y toxicológicas y sus mecanismos de acción, seguridad y eficacia en las especies de *A. cathartica*.

Esta revisión es importante para el presente estudio por que se observa la variabilidad fitoquímica de la planta *A. cathartica*, cabe destacar que se relacionan con los metabolitos secundarios obtenidos en este estudio.

Rafi, Pertiwi y Syaefudin (2019), estudiaron el contenido fenólico total y la actividad antioxidante de seis plantas ornamentales de Indonesia. Esas plantas fueron *Allamanda cathartica*, *Hydrangea macrophy*, *Anthurium crystallinum*, *Aerva sanguinolenta*, *Acalypha siamensis* y *Torenia fournieri*. La extracción se llevó a cabo mediante maceración utilizando etanol como disolvente. El contenido fenólico total se determinó mediante el método de Folin Ciocalteu. La actividad antioxidante se midió utilizando el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

(DPPH) y capacidad antioxidante reductora del ion cúprico (CUPRAC). Según los resultados obtenidos, *Hydrangea* tiene el mayor rendimiento y contenido fenólico total, aproximadamente 15,45 % y 13,86 mg EAG/g, respectivamente. *Allamanda cathartica* obtuvo un CUPRAC de 51,38 y un DPPH de 1,65. Las hojas de *Acalypha siamesa* presentaron la mayor actividad antioxidante en todos los métodos utilizados con un valor de 180,45 mg EAG/g (DPPH) y 589,90 μ mol trolox/g de polvo seco (CUPRAC). . Esto indica que la actividad antioxidante no solo se deriva de compuestos fenólicos porque las hojas de *Acalypha* que tienen niveles fenólicos totales.

Se relaciona con este trabajo debido a la identificación de la actividad antioxidante de la planta, además de la utilización del mismo método 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo para su identificación.

Antecedentes Históricos

En el siglo I d.c el médico y botánico griego Dioscórides escribió una obra que comprendía todos los remedios que ofrece la naturaleza, con especial énfasis en las plantas medicinales. Sus discípulos la fueron ampliando después hasta alcanzar seis volúmenes. Esta extraordinaria obra conocida como Materia Médica de Dioscórides o simplemente ``El Dioscórides`` fue el libro de texto básico para todos los médicos occidentales durante más de 1700 años (Dioscórides,1998).

En la civilización occidental, la influencia ejercida por Hipócrates, en la utilización de compuestos metálicos y por galeno (131-200 d.c), al considerar los productos de origen vegetal como elementos esenciales en la recuperación de la salud, fue muy grande. Con el progreso de la química y el surgimiento de la farmacología, a partir del siglo XVII, los médicos fueron sustituyendo poco a poco sus recetas a base de plantas, basadas en ``El Dioscórides``, por prescripciones a base de productos químicos extraídos de plantas (Dioscórides,1998).

En los últimos años se ha redescubierto el valor de los remedios naturales, y la medicina vuelve a hacer un uso cada vez mayor de las plantas curativas. Se ha podido comprobar que, aunque su efecto puede parecer más lento, los resultados son mejores a largo plazo, especialmente en enfermedades crónicas (Dioscórides,1998).

El género *Allamanda*, fue así llamado en honor del botánico suizo Dr. Frédéric-Louis Allamand (1735-1803) a finales del siglo XVIII. La especie *Allamanda cathartica* es nativa de zonas de Sudamérica y Centroamérica, y pertenece a la familia Apocynaceae, se ha extendido en todas las zonas tropicales del mundo. Se ve a menudo junto a los caminos o se utiliza para cubrir superficies de tierra o paredes. En algunas zonas se considera incluso planta invasora y plaga. En Colombia, el látex se utiliza como vomitivo y vermífugo. En Cuba, la infusión de hoja se ha utilizado como emético y purgante. Toda la planta causa irritación de la piel y es cáustico para los ojos. La ingestión causa náuseas, vómitos y sequedad. El extracto de raíces y las hojas provoca hipotensión. El extracto acuoso facilita la cicatrización de las heridas (Rojo, 2015).

Bases Teóricas

Generalidades de Familia Apocynaceae

Es una familia de dicotiledóneas que incluye árboles, arbustos, hierbas o lianas. Muchas especies son grandes árboles que se encuentran en la selva tropical, y la mayoría son de procedencia de los trópicos y los subtrópicos. Algunas son hierbas perennes de la zona templada. Estas plantas tienen savia lechosa y muchas especies son venenosas si se ingiere. Esta familia se distribuye primordialmente en las regiones tropicales (Rojo, 2015):

- En las selvas y zonas pantanosas de India y Malasia: Árboles de porte pequeño a muy grande de hojas perennes, frecuentemente con raíces de contrafuerte, tales como *Alstonia* y *Dyera*.
- En el Norte de Australia: Árboles de porte pequeño de hoja perenne como *Cerbera* y *Ochrosia*.
- En las selvas de hoja caduca de África e India: Árboles de porte pequeño tales como *Carissa*, *Wrightia* y *Holarrhena*.
- En la América tropical, India, Myanmar y Malasia: Árboles de hoja perenne y arbustos, tales como *Rauwolfia*, *Tabernaemontana* y *Acokanthera*.
- En América Central: Plumeria, o Frangipani, con sus céreas flores de color blanco o rosáceo y dulces fragancias.
- En América del Sur, África y Madagascar: Muchas lianas tales como *Landolphia*.
- En la región Mediterránea: *Nerium*, con la bien conocida adelfa, el arbusto (*Nerium oleander*). También las vincas (*Vinca major* y *Vinca minor*).
- En América del Norte: *Apocynum*, también llamado "Cáñamo indio", incluye *Apocynum cannabinum*, una fuente tradicional de fibra.

Esta familia consta de 215 géneros y 2100 especies, se caracteriza por arbustos y lianas, hojas opuestas o verticiladas, simples y enteras, inflorescencias en corimbo o flores solitarias, flores hermafroditas, actinomorfas, cáliz con 5 sépalos, corola infundibuliforme o hipocrateriforme, con 5 pétalos blancos o coloreados, 5 estambres, gineceo con ovario de 2 carpelos libres pero unidos por la parte superior, con 1 estilo y fruto difolículo (Rojo, 2015). Taxonómicamente se clasifica de la siguiente manera:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Gentianales

Familia: Apocynaceae

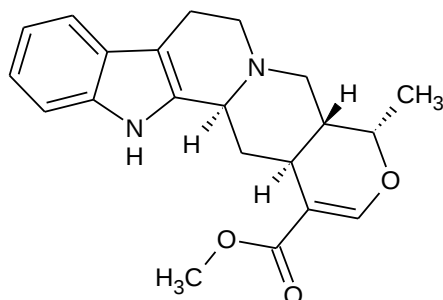
Subfamilia: Rauvolfioideae

La especie en el medio natural prefieren las zonas con humedad elevada: torrentes y zonas con la capa freática alta. Los géneros presentes tienen ambos una especie muy característica: la adelfa (*Nerium oleander*) y la hierba lechera (*Vinca difformis*). Hay varios géneros con especies alóctonas conocidas en los jardines de Baleares: *Catharanthus*, *Mandevilla*, *Pachypodium*, otros (Rojo, 2015).

Compuestos químicos obtenidos de la familia Apocynaceae

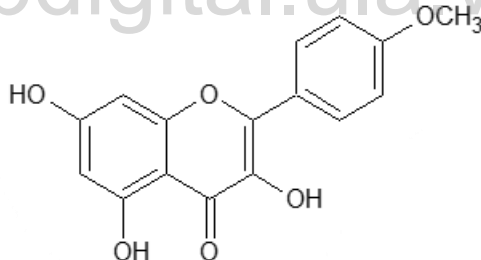
Las Apocináceas tienen las siguientes características fitoquímicas: Presentan en la mayoría de las veces alcaloides carbolínicos y otros alcaloides indólicos. Se han detectado iridoides en algunos géneros (*Plumeria*, *Rauvolfia* y *Allamanda*). También presentan proantocianidinas, cianidina y delfinidina. Pueden presentar kaempferol y/o quercetina. Se ha encontrado ácido ursólico. Los azúcares son transportados como sacarosa o como oligosacáridos. La fisiología se ha reportado en *Apocynum*, *Nerium*, *Pachypodium*, *Plumeria* y *Rhazya*. El metabolismo CAM ha sido reportado directamente en *Carissa* (no-suculenta) y *Pachypodium* (Ferreira, Lima, Moraes, Cantuária, Soares, Souza, Orellana, Orellana, Farias, Silva, Lima y Almeida, 2023). (figura.1 y 2)

Figura 1. Alcaloide representativo aislado de la familia Apocynaceae



Tomado y modificado de Abad, Bahsas, Delgado, Amaro y Neil, 2006.

Figura 2. Flavonoide representativo aislado de la familia Apocynaceae



Tomado y modificado de Abad y cols, 2006.

Usos etnobotánicos y actividades farmacológicas familia Apocynaceae

Algunas plantas de esta familia tuvieron una importancia económica en el pasado. Los géneros *Carpodinus*, *Landolphia*, *Hancornia*, *Funtumia* y *Mascarenhasia* fueron una fuente secundaria de caucho. El jugo lechoso de *Pachypodium* spp. ha sido usado como veneno para impregnar las puntas de las flechas por los bosquimanos.

Los géneros siguientes son plantas ornamentales: *Amsonia* (estrella azul), *Nerium* (adelfa), *Vinca* (pervinca), *Carissa* (ciruela de Natal, una fruta comestible), *Allamanda* (trompeta dorada), *Plumeria* (frangipani), *Thevetia* (nuez afortunada), *Mandevilla* (flor de la sabana). *Rauvolfia cafra* es el "árbol de la quinina", de Sudáfrica. *Rauvolfia* serpentina o "raíz de serpiente" de la India suministra los alcaloides reserpina y rescinamina. Algunos, como *Acokanthera*, *Apocynum*, *Cerbera*, *Nerium*, *Thevetia* y *Strophanthus*, son fuentes de drogas, tales como glucósidos cardíacos, relacionados con el funcionamiento del corazón. El género *Apocynum* se usó como fuente de fibras por los nativos americanos (Morales, 2005).

Generalidades de Género *Allamanda*

El género *Allamanda* está formado por unas 15 especies de plantas (Figura 3), todas se caracterizan por ser arbustos trepadores de tamaño medio, sus hojas son ovaladas de color verde brillante y poco onduladas. Su característica principal es la abundancia de flores en forma de campana que produce, por eso son muy usadas ornamentalmente. Pertenece al género *Allamanda*, nombre adquirido en honor del botánico Suizo, el Dr. Frédéric-Louis Allamand (1735-1803). Es una especie de planta perenne de la familia Apocynaceae nativa de Brasil. Cultivada como planta ornamental, crece a pleno sol. Es una especie de planta tropical de rápido crecimiento, crece rápidamente. En las zonas de clima mediterráneo es preferible que la planta no se exponga directamente al sol en las horas más calurosas del día. No es aconsejable para la planta temperaturas por debajo de los 10 °C, la temperatura idea de la planta es entre los 20-25 °C durante su época de floración y una humedad ambiental encima del 60% (Ferreira, Lima, Moraes, Cantuária, Soares, Souza, Orellana, Orellana, Farias, Silva, Lima y Almeida, 2023). (Figura 3) Taxonómicamente se clasifica de la siguiente manera:

Nombre científico: *Allamanda*

Familia: Apocynaceae

Orden: Gentianales

Clase: Magnoliopsida

Reino: Plantae

Tribu: Plumerieae

Figura 3. *Allamanda blanchetii*



Tomado y modificado de Ferreira y cols., 2023.

Generalidades de especie *Allamanda cathartica*

La especie *Allamanda cathartica* (Figura 4) se caracteriza por ser arbustos leñosos perennes que pueden alcanzar los 2 metros o más. Las hojas son coriáceas como lanceoladas, pintadas y pueden ser opuestas o en conjuntos de 3 o 4. Las flores con forma de trompeta son de color amarillo de 5-7,5 cm de diámetro; en cultivo las flores pueden ser blancas, púrpura, rosas o naranja (Rojo, 2015).

Distribución geográfica

La *Allamanda cathartica* se ha extendido prácticamente en todas las zonas tropicales del mundo, pudiéndola encontrar junto a los caminos o cubriendo superficies de tierra o paredes. En algunas zonas como por

ejemplo en el estado de Queensland (Australia) se la ha llegado a considerar incluso como planta invasora (Figura 4) (Rojo, 2015).

Figura 4. *Allamanda cathartica*



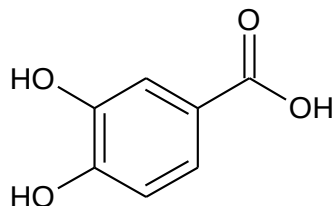
Tomado y modificado de Vera y Abarca, 2019.

Compuestos químicos de *Allamanda cathartica*

Los componentes químicos de *A. cathartica* se han estudiado ampliamente desde 1954. Los estudios químicos preliminares mostraron la presencia de alcaloides, antraquinonas, antocianinas, carbohidratos, carotenoides, cumarina, flavonoides, glucósidos, hidrocarburos, lignina, lípidos, compuestos fenólicos, quinonas, saponinas, esteroides, taninos y terpenos de diversos extractos, principalmente hojas, flores, tallos, corteza de tallo, raíces y brotes (Vera y Abarca, 2019).

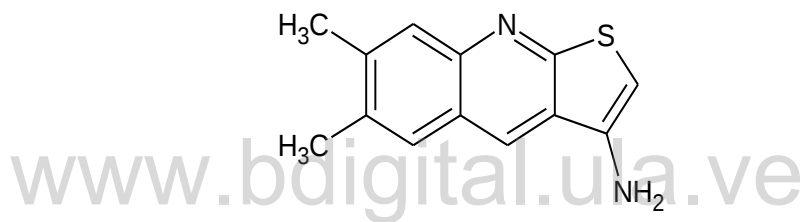
Sólo se han aislado e identificado estos grupos de compuestos químicos, y no se han encontrado antraquinonas, antocianinas, cumarina, quinonas ni ligninas. (figura 5,6,7,8,9) (Vera y Abarca, 2019).

Figura 5. Compuestos fenólicos de *A. cathartica*



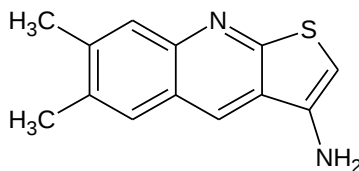
Tomado y modificado de Vera y Abarca, 2019.

Figura 6. Estructuras de los alcaloides de *A. cathartica*



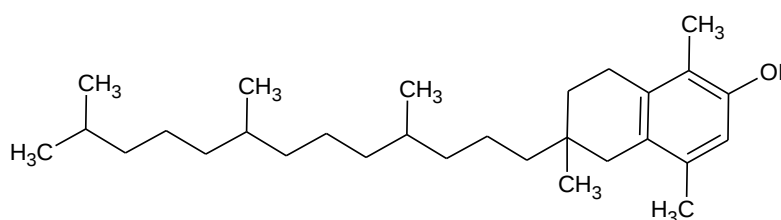
Tomado y modificado de Vera y Abarca, 2019.

Figura 7. Estructuras de los esteroides de *A. cathartica*



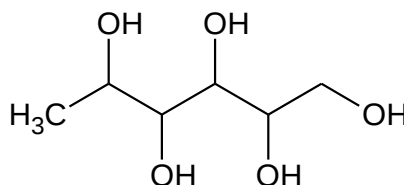
Tomado y modificado de Vera y Abarca, 2019.

Figura 8. Estructuras de terpenos de *A. cathartica*



Tomado y modificado de Vera y Abarca, 2019.

Figura 9. Estructuras de un carbohidrato de *A. cathartica*



www.bdigital.ula.ve

Tomado y modificado de Vera y Abarca, 2019.

Actividad farmacológica reportada para *A. cathartica*

En la medicina tradicional, *A. cathartica* está indicada para diversos tratamientos en muchas partes del mundo: como antifúngico (Estados Unidos, Caribe y Bangladesh, antiviral (Estados Unidos y Caribe, anticancerígeno. (Malasia), y catártico (India y Bangladesh) o para tratar cólicos (India) o diabetes (. También se utiliza como diurético y emético para el tratamiento de la fiebre, ascitis hidragoga, hipertensión; para mejorar la circulación sanguínea; y para reducir la inflamación. También se utiliza para tratar la ictericia, Brasil y Malasia, laxante y malaria, Surinam, Filipinas. La savia lechosa se utiliza para los cólicos por plomo, parasitosis, reumatismo, sarna y eliminación de piojos, mordeduras de serpientes, y esplenomegalia. Las partes de la planta utilizadas con mayor frecuencia, en orden decreciente, son las hojas, la corteza del tallo, las

flores, las raíces, el tallo, la savia, las semillas y las ramas (Vera y Abarca, 2019).

Antiinflamatorio: Se evaluó la inhibición de la hemólisis en eritrocitos humanos por una fracción acuosa de extracto Metanólico de las hojas, con tasas de $69,49 \pm 0,49$ % en comparación con el control positivo ácido acetilsalicílico (0,1 mg/mL), que mostró una inhibición del 72,79 %. El tratamiento con el compuesto dio como resultado un menor acortamiento del colon, un mejor daño histológico y una menor depleción de mucina de la mucosa intestinal en comparación con el grupo tratado únicamente con el vehículo (Vera y Abarca, 2019).

Antidepresivo: La actividad antidepresiva del compuesto 145 plumierida se evaluó en ratones hembra Swiss Webster (0,5, 1 y 2 $\mu\text{g/kg}$). Las dosis de 1 y 2 $\mu\text{g/kg}$ mostraron una diferencia significativa $p < 0,001$ con respecto al control negativo. Se utilizó imipramida (20 mg/kg ip) como control positivo (Vera y Abarca, 2019).

Antidiabético: Los extractos acuosos de las partes aéreas de *A. cathartica* (400 mg/Kg durante 28 días) redujeron los niveles de glucosa en sangre en ratas diabéticas con estreptozotocina, en comparación con glibenclamida (5 mg/Kg) como estándar, con una significación estadística $p < 0,001$ (Vera y Abarca, 2019).

Antihiperlipidémico: el extracto etanólico de la flor de *A. cathartica* (100, 150 y 300 mg/Kg, vo) y el compuesto (0,5, 1 y 2 mg/Kg, IP) disminuyeron la lipoproteína total y de alta densidad (HDL) y los niveles de colesterol, con diferencias significativas de $p < 0,001$ y $p < 0,05$, respectivamente, en ratones hembra Swiss Webster en las dos dosis más altas probadas (Vera y Abarca, 2019).

Antifertilidad: La administración oral de extractos acuosos de hojas de *A. cathartica* (150 mg/Kg/día durante 14, 28 y 42 días) indujo infertilidad y cambios en varios criterios de valoración reproductivos

masculinos en ratones de la cepa Parkes. Histológicamente, los testículos de los ratones tratados con extracto mostraron cambios degenerativos no uniformes en los seminíferos. El tratamiento también tuvo efectos adversos sobre la motilidad, la viabilidad, la morfología y el número de espermatozoides en la cola del epidídimo. La fertilidad de los machos tratados con extracto también se suprimió. La administración oral de (15 mg/rata/día durante 60 días) en ratas Wistar macho redujo significativamente el peso de los testículos, epidídimos, vesículas seminales y próstata en comparación con los controles negativos, y la movilidad de los espermatozoides y las células de Sertoli también disminuyeron significativamente y sin efectos secundarios sistémicos. El número de células de Leydig maduras disminuyó y se observó una supresión completa de la fertilidad. Se redujo el contenido de proteínas y ácido siálico en los testículos, epidídimos, vesícula seminal y próstata, así como el contenido de glucógeno de los testículos y fructosa en las vesículas seminales. Sin embargo, el colesterol testicular estaba elevado (Vera y Abarca, 2019).

Cicatrización de las heridas: Los extractos acuosos de las hojas de *A. cathartica* (150 mg/Kg/día durante 14 días) promovieron la actividad de curación de heridas en ratas Sprague-Dawley. En comparación con los controles, las ratas tratadas tenían mayores tasas de contracción de la herida, menores períodos de epitelización, una mayor resistencia a la rotura de la piel, un peso significativamente mayor del tejido de granulación y un mayor contenido de hidroxiprolina. Los estudios histológicos del tejido de granulación en ratas tratadas mostraron menos células inflamatorias y una mayor formación de colágeno (Vera y Abarca, 2019).

Trombólisis: Las hojas de *A. cathartica* se extrajeron con metanol y posteriormente se repartieron con hexano, tetracloruro de carbono, cloroformo y agua. La actividad trombolítica de la preparación resultante

se evaluó *in vitro* con una concentración de extracto de 0,1 mg/100 µL. Como control positivo se utilizó estreptoquinasa. Todos los extractos mostraron actividad trombolítica con respecto al control negativo con una diferencia significativa de $p < 0,001$. El extracto dividido en cloroformo presentó la tasa más alta de lisis del coágulo (34,51 %) (Vera y Abarca, 2019).

Efecto purgante: El efecto purgante del extracto acuoso de las hojas de *A. cathartica* se evaluó en diferentes dosis (20, 40, 80, 160 y 320 mg/Kg por vía oral). Como control positivo se utilizó el extracto de Sen en las mismas condiciones y como control negativo la solución salina; el extracto mostró un efecto dependiente de la dosis (Vera y Abarca, 2019).

Tirosinasa: Se examinó la actividad inhibidora de la tirosinasa de los extractos metanólicos de los tallos en polvo de *A. cathartica* y se identificó que el compuesto tenía la mayor actividad inhibidora contra la tirosinasa (IC_{50} : 2,93 µM), que era 15 veces más fuerte que el ácido kójico utilizado. como control positivo (IC_{50} : 43,7 µM) (Vera y Abarca, 2019).

Amilasa: Las hojas extraídas con etanol al 50 % (v/v), se identificó que los alótidos eran ricos en prolina y tenían actividad inhibidora de la α -amilasa (Vera y Abarca, 2019).

Antivírico: Mediante un método *in silico*, se determinó que algunos compuestos presentes en *A. cathartica* tienen actividad antiviral contra la proteína de la cápside del virus de la hepatitis B humana. Se evaluó la actividad antirrábica del extracto de metanol y de extractos acuosos de las hojas; sin embargo, los extractos no inhibieron el virus de la rabia en las concentraciones evaluadas (Vera y Abarca, 2019).

Productos Naturales

El mundo vegetal es el que muestra un abanico de moléculas más diverso donde el hombre ha hecho y hace una provechosa su utilización. La maquinaria química de un vegetal es tan ingeniosa que asombra al estudiar en su profundidad la estructura, función, metabolismo y regulación de cada molécula identificada y de los innumerables procesos en que participan a nivel celular. La gran diversidad de compuestos que el hombre extrae de un vegetal, aprovecha o intenta darle alguna utilización los denominamos productos naturales vegetales (Bandoni y cols., 2003).

Clasificación de los componentes químicos vegetales

Los compuestos químicos celulares (metabolitos) pueden ser clasificados en primarios y secundarios. En este sentido, los compuestos primarios serían todos aquellos que son esenciales para el funcionamiento de toda materia viva, responsables de su estructura y de todas las reacciones necesarias para mantener el estado vital y posibilitar el crecimiento, el desarrollo y la reproducción (Bandoni y cols., 2003).

Los glúcidos representan compuestos útiles como reserva energética (glucosa, sacarosa y almidón en plantas, glucógeno en animales), como material estructural y cementante (celulosa, pectinas, hemicelulosa en vegetales) (Bandoni y cols., 2003).

Los lípidos son típicos compuestos de reserva energética y de carbono, componentes estructurales fundamentales de las membranas biológicas, solubles en solventes no polares (Bandoni y cols., 2003).

Las proteínas son quizás los compuestos más versátiles, esenciales por sus actividades catalíticas, estructurales, hormonales y una gran diversidad de otras funciones (Bandoni y cols., 2003).

Los ácidos nucleicos, en cambio, cumplen la primordial función de ser las moléculas depositarias de la información genética y permitirles a

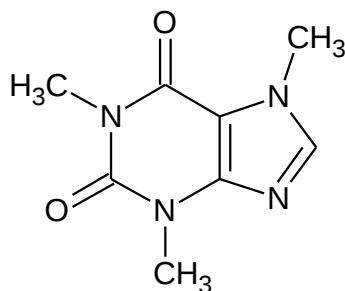
los seres vivos transmitir sus características a la descendencia. Los compuestos secundarios cumplen funciones que no resultan estrictamente vitales en los tejidos y representan en ocasiones compuestos de desecho del metabolismo (Bandoni y cols., 2003).

Gran diversidad de metabolitos secundarios ha sido y son utilizados por el hombre para aplicarlos en la industria farmacéutica, terapéutica de cultivos, perfumística, alimenticia (como suplementos, aditivos o colorantes. En muchos casos los metabolitos secundarios pueden ser materia prima para sintetizar otros compuestos útiles, originando productos de semisíntesis. La utilidad de los mismos está solamente limitada por la imaginación humana o por el avance de los conocimientos científicos (Bandoni y cols., 2003), entre los metabolitos secundarios están los siguientes:

Alcaloides

Los alcaloides constituyen un grupo muy heterogéneo de bases de vegetales nitrogenadas, con acción fisiológica más o menos intensa sobre los animales. La mayoría de los alcaloides son sólidos incoloros, aunque algunos como la conona, y la nicotina son líquidos, otros amarillos como la berberina, o rojos como la queliretrina. La mayoría de los alcaloides se hallan en los vegetales como sales de ácidos orgánicos. En ciertas plantas puede haber un ácido especial asociado a los alcaloides; así, el ácido quiníco está unido a los alcaloides de la quinina (figura 9) (Canales, Carazo y Centeno, 2011).

Figura 9. Alcaloide

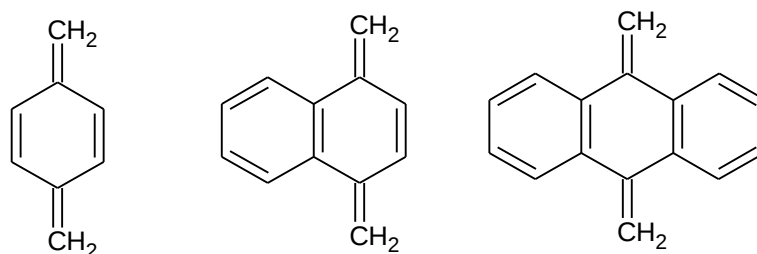


Tomado y modificado de Canales, Carazo, Centeno, 2011.

Quinonas

Son dicetonas cíclicas insaturadas que por su reducción se convierten en polifenoles, siendo reversibles esta reacción, son comunes en plantas, en vegetales, hongos y bacterias. Derivan su nombre de la *p*-benzoquinona como producto de oxidación del ácido quínico. Se clasifican en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas y fenantraquinonas (Figura 10), dependiendo de los anillos aromáticos que posean (Sánchez, 2020).

Figura 10. Estructura química de Quinona, naftoquinona y antraquinona



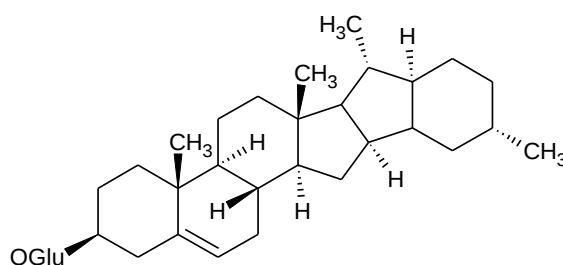
Tomado y modificado de Sánchez, 2020.

Saponinas

Se le da el nombre de saponinas (del latín: Sapon = jabón) a un grupo de glicósidos que se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de ésta: por lo tanto, al sacudir sus soluciones, se forman una

espuma abundante, y relativamente estable. Aislamiento: Las saponinas son sustancias muy polares y es posible extraerlas en caliente o en frío, con agua o alcoholes de bajo peso molecular (figura.11) (Canales, Carazo y Centeno, 2011).

Figura 11. Estructura química de la Saponina

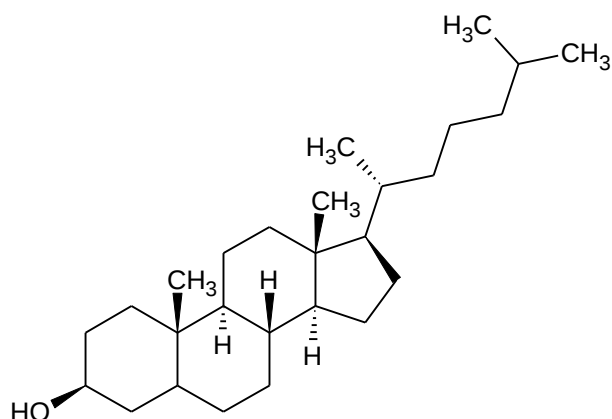


Tomado y modificado de Ahumada, Ortega, Chito y Benítez, 2016.

Terpenos

Los terpenos forman la familia más grande de los productos naturales, (Figura 12), los cuales son de importancia en el sistema inmunológico, reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y favorecen la producción de endorfinas. Su estructura base está formada por unidades isoprenicas triterpenoides y esteroides. Las plantas utilizan los terpenoides para funciones básicas como el crecimiento y el desarrollo, pero usan la mayoría de los terpenoides para interacciones químicas más especializadas y la protección en el medio biótico y abiótico (Sánchez, 2020).

Figura 12. Estructura química de un terpeno

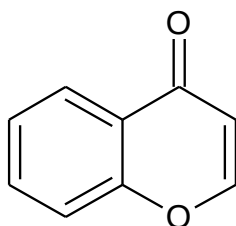


Tomado y modificado de Sánchez, 2020.

Cumarinas

Son una familia de fitoquímicos y se biosintetizan en las plantas por la ruta fenilpropanoide. Estos compuestos son derivados de la *benzo- α -pirona*, como la cumarina, la esculetina y la escopoletina. Las cumarinas son sólidos cristalizables, se puede ver en su estructura química (Figura 13) un anillo un anillo bencénico unido a una piran-2-ona (Sánchez, 2020).

Figura 13. Estructura química de cumarina

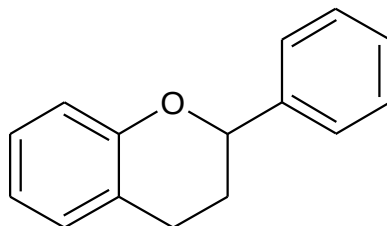


Tomado y modificado de Sánchez, 2020.

Flavonoides

Su esqueleto carbonado contiene 15 carbonos (figura.15) ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos (Figura 9), estos se clasifican en función del grado de oxidación del puente de tres carbonos, siendo las principales las antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas. Los flavonoides sin ser metabolitos primarios se encuentran casi en cualquier vegetal superior, hay más de 8000 compuestos conocidos de plantas vasculares, mientras que en los vegetales inferiores, algas, hongos y bacterias, los compuestos fenólicos principales son quinonas y xantonas y a estos deben su color. La función de los flavonoides en las plantas son varias puesto que se consideran antioxidantes y secuestradores de radicales libres, agentes antimicrobiales y antinutricionales, fotoreceptores y protectores contra la luz UV, agentes quelantes de metales, atractores visuales para los insectos, entre otros (figura 14). (Marcano y Hasewaga, 2002).

Figura 14. Estructura química de un Flavonoide.



Tomado y modificado de Tenorio, Mondragón y Pastelín, 2006.

Biosíntesis de los productos naturales

Para la obtención de metabolitos primarios se lleva a cabo a través de la fotosíntesis proceso físico-químico por el cual plantas, algas, bacterias fotosintéticas y algunos protistas como diatomeas utilizan la energía de la luz solar para sintetizar compuestos orgánicos (Roberts, 2012).

La biosíntesis es un proceso de múltiples etapas catalizado por enzimas donde los sustratos se convierten en productos más complejos en organismos vivos. En la biosíntesis, los compuestos simples se modifican, se convierten en otros compuestos, o se unen para formar macromoléculas (Roberts, 2012).

En este sentido, la hipótesis de Collie demuestra que los compuestos se elaboran biológicamente a partir del ácido etanoico para incluir un número extraordinario de compuestos diversos. El nombre genérico “acetogenina” ha sido sugerido como una clasificación conveniente para los productos naturales derivados del etanoato (acetato), pero también se usa el nombre “policétidos”. Los compuestos de origen natural se elaboran en gran medida de esta manera. Un ejemplo es el ácido 2-hidroxi-6-metilbenzoico formado como metabolito

del molde *Penicillium urticae*; usando ácido etanoico C14 marcado con carboxilo (Roberts, 2012).

Extractos Vegetales

Los extractos vegetales se pueden definir como compuestos producidos de la obtención de sustancias biológicamente activas presentes en los tejidos de plantas, por el uso de un solvente y un proceso de extracción adecuado (Celis, Mendoza, Pachón, Cardona, Delgado y Cuca, 2008).

Métodos de Obtención

Actualmente existen diferentes técnicas de extracción de principios activos obtenidos de diversas partes botánicas de las plantas como lo son las hojas, las flores, los tallos, las semillas, las raíces y frutos, siendo la destilación con arrastre de vapor, hidrodestilación, decantación, filtración y cromatografía las principales técnicas o métodos de extracción usadas en la separación, obtención de extractos y su purificación, usadas tanto en industrias farmacéuticas, cosméticas y alimenticias (Celis y cols., 2008).

Los métodos de separación dependen de las propiedades físicas de los componentes de una mezcla obtenida de las plantas para la obtención de extractos (Celis y cols., 2008).

Maceración

Hace referencia a la trituración botánica, como en el caso de trituración de semillas o frutos mediante el uso de agua purificada ya que algunas plantas no pueden someterse a altas temperaturas debido a su probable pérdida de principios activos (García, Rivas y Verde, 2016).

Destilación

Consiste en la separación de componentes mezclas basándose en las diferencias en los puntos de ebullición de dichos componentes (Celis, 2008).

Decantación

Consiste en la separación de dos fases (componentes) de una mezcla mediante la separación de un sólido de otro, o dos líquidos de diferente densidad (Canales, Carazo y Centeno, 2011).

Filtración

Consiste en la retención de partículas sólidas a partir de papel, fibras, mallas el cuál separa un extracto de una mezcla (Celis y cols., 2008).

Evaporación

Consiste en la separación de componentes volátiles mediante la aplicación de calor o corriente de aire seco (Celis y cols., 2008).

El método clásico para obtener distintos constituyentes orgánicos de tejidos vegetales secos (madera, semillas, raíces, hojas) es una extracción continua del material pulverizado en un equipo Soxhlet con distintos solventes que permiten extraer las sustancias buscadas con un mayor o menor grado de pureza. El material vegetal (seleccionado y pulverizado) es agotado en primer lugar con un solvente de tipo no polar o de polaridad intermedia: éter de petróleo, benceno, cloroformo, éter etílico, etc. Luego la muestra es tratada con distintos alcoholes como etanol, metanol (solventes de tipo polar) y finalmente con agua (Celis y cols., 2008).

La técnica de reflujo, el procedimiento de reflujo inicia con el acoplamiento de un matraz que contenga la reacción a tratar, a una de las

bocas del tubo refrigerante del reflujo. Según va produciéndose el calentamiento del matraz, la temperatura también aumenta con lo que se produce la evaporización del disolvente. Dichos vapores ascienden poco a poco por el cuello del matraz, hasta llegar al tubo refrigerante, donde tiene lugar la condensación de éstos, debido a la acción que produce el agua fría que se encuentra circulando por el exterior del tubo, para seguidamente, volver de nuevo al matraz. Esto provoca un reflujo continuado de disolvente, el cual se mantiene constante en la reacción, en cuando a su volumen se refiere (Celis y cols., 2008).

Tamizaje Fitoquímico

Los ensayos fitoquímicos tradicionales aún constituyen una forma confiable de realizar un análisis cualitativo de los extractos, ya que arrojan información preliminar acerca de su composición. Cuando se investigan muchos extractos de plantas constituye una ventaja ya que permite descartar todas aquellas especies que no tienen potencial para ser utilizadas para algún beneficio farmacológico, quedando solamente las que sí lo tienen. El tamizaje fitoquímico consiste en la obtención de los extractos de las especies con solventes apropiados, tales como agua, acetona, alcohol, cloroformo y éter. Otro solvente, el diclorometano, se usa específicamente para la extracción de terpenoides. Posterior a la extracción, se llevan a cabo reacciones las cuales son reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo (Bandoni y cols., 2003).

Algunas de las reacciones evalúan grupos de sustancias y otros la presencia de otros compuestos como ácidos grasos, azúcares reductores, polisacáridos y mucílagos (Bandoni y cols., 2003).

Los métodos de análisis fitoquímico pueden ser de diversos tipos (Bandoni y cols., 2003).

- **Histológicos:** consisten en la observación de cortes de tejidos que han sido tratados con reactivos que producen reacciones de coloración o precipitación ante la presencia de ciertos compuestos que quiere investigarse. Un ejemplo es la identificación de almidón en tejidos observando el color azul que se desarrolla ante la reacción con el reactivo lugol (Bandoni y cols., 2003).

- **Químicos:** comprenden el tratamiento de extractos con reactivos que dan lugar a la producción de colores o precipitados característicos (Bandoni y cols., 2003).

- **Biológicos:** donde se observa el efecto de los extractos vegetales sobre cultivos de microorganismos, células, tejidos o sobre animales (Bandoni y cols., 2003)

- **Fisicoquímicos:** como el uso de métodos cromatográficos y espectrométricos u otros métodos a partir de los extractos obtenidos del material en ensayo (Bandoni y cols., 2003).

La investigación fitoquímica de una planta comprende varios aspectos: a) Extracción de los compuestos a analizar a partir de una muestra o especimen. b) Separación y aislamiento de los mismos. c) Identificación y/o caracterización de los compuestos aislados. d) Investigación de las rutas biosintéticas de determinada molécula. e) Determinación o valoración cuantitativa (Bandoni y cols., 2003).

Análisis fitoquímico preliminar

Flavonoides

La identificación de este metabolito secundario se realiza por medio de la prueba Shinoda. Esta prueba es una reacción del magnesio en medio ácido, reduciendo el flavonoide generando así un producto pigmentado que va de rojo anaranjado a violeta, en donde se consideró

positiva la presencia de flavonoides si apareció una coloración naranja a violeta (Cabrera ,2020).

Saponinas

La identificación de estos metabolitos secundarios se realiza mediante la prueba de la espuma. La aparición de espuma a una altura de < 5mm (-) confirma la no presencia de saponinas en el extracto. Este ensayo se fundamenta en el reconocimiento del tipo esteroidal como triterpénicas los cuales reaccionan en agua generando espuma (Cabrera, 2020).

Triterpenos y esteroides

La identificación de estos metabolitos secundarios se realiza mediante el ensayo de Liebermann Burchard. Este ensayo consiste en una reacción donde el esteroide se oxida por la presencia del ácido sulfúrico que forma una molécula que contiene un doble enlace adicional, la etapa inicial de esta prueba ocurre la protonación del grupo OH del esteroide con pérdida de agua y obteniéndose el ion carbonio 3,5 colestadieno que constituye la primera parte para la formación de color. La aparición de una coloración violeta verde o azul confirma la presencia de triterpenos y esteroides (Cabrera, 2020).

Alcaloides

Estos metabolitos secundarios tienen la propiedad de combinarse con metales pesados por lo cual se determina su presencia mediante el reactivo de Mayer. Una vez realizado el reactivo se tomó 0,5 mL de solución acuosa ácida en 1 tubo de ensayo limpio y se añade una gota del reactivo Mayer la aparición de un precipitado confirma positivo para Alcaloides. Este reactivo precipita la mayoría de los alcaloides en medio ácido permitiendo la formación de precipitados cristalinos; cuando el yoduro de potasio reacciona con el cloruro de mercurio forma un precipitado

rojo de yoduro de magnesio este es soluble en exceso de iones de yoduro dando la formación de un anión complejo incoloro (Cabrera, 2020).

Quinonas

La identificación de estos metabolitos se realiza mediante el ensayo de Borntrager. Esta reacción se fundamenta en la hidrólisis de los enlaces glicosídicos y se produce una oxidación de las antranas y antranoles hasta que las antraquinas forman complejos de color rojo o rosa (Cabrera, 2020).

Compuestos fenólicos

La identificación de estos metabolitos se realiza mediante la formación de fenoles con cloruro férrico acuoso por lo cual se toma 1 mL de solución acuosa en un tubo de ensayo limpio, posteriormente se le añade 1 gota de FeCl_3 al 1 % acuoso y se mezcla. La aparición de color violeta a verde confirma positivo para hidroxilos fenólicos (Cabrera, 2020).

Ensayos de precipitación: ensayos químicos usados para el reconocimiento incluyen varios ensayos de precipitación, entendiendo que la precipitación es un proceso de obtención de un sólido a partir de una disolución. Puede realizarse por una reacción química, por evaporación del disolvente, por enfriamiento repentino de una disolución caliente, o por cambio de polaridad del disolvente (Monedero, 2016).

Ensayos de reconocimiento para compuestos fenólicos: en estos ácidos fenólicos consisten en dos grupos: los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. (Monedero, 2016).

Ensayo de Shinoda: se diluye con 1mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálica. Existen tres características principales que van a determinar la función antioxidante de los flavonoides: la primera es la presencia de la estructura catecol u ortohidroxilo en el anillo B, la segunda es la presencia de un doble enlace

en la posición 2,3 y por último la presencia de grupos hidroxilo. En la reacción 54 de Shinoda, el magnesio metálico es oxidado por el HCl concentrado, dando como productos al H₂, que es eliminado en forma de gas y el MgCl₂, que es el que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características (Monedero, 2016).

Las cumarinas: su detección es mediante el ensayo de hidróxido de amonio, siendo esta una solución incolora de amoníaco en agua con un olor acre. Por lo general se encuentra en concentraciones hasta el 30 % y se utiliza en productos de limpieza doméstica, fotografía, fertilizantes, textiles, caucho y fármacos. También se utiliza como refrigerante, las cuales al ser examinadas a la luz ultravioleta presenta coloración exaltada en presencia de amoniaco (Monedero, 2016).

Ensayo de Liebermann-Burchard: esta prueba consiste en agregar a 1 mL de muestra alcohólica, agregar 3-4 gotas de reactivo de Liebermann-Burchard (10 gotas de anhídrido acético y 2 gotas de H₂SO₄). La formación de un color azul, verde, rojo, anaranjado, indicará una prueba positiva. (Monedero, 2016).

Ensayo de la espuma: el ensayo tiene la capacidad de disminuir la tensión superficial de sus soluciones acuosas. Así al agitar una solución acuosa de una muestra que sea o contenga saponinas, se forma una espuma estable como la obtenida al agitar la solución acuosa de un jabón. Las espumas líquidas son sistemas bifásicos en estado metaestable formados por una dispersión de burbujas de gas en una matriz líquida continua. La metaestabilidad se consigue por adición de agentes químicos estabilizantes, generalmente surfactantes o tensioactivos. Test Afrosimétrico. Se tomó la cuarta parte del extracto etanólico seco en un tubo de ensayo y se añadió 5 mL de agua destilada, se calentó al baño de maría hirviendo por 2 minutos, se agitó vigorosamente, observándose la aparición de espuma muy persistente; la

persistencia en minutos de la espuma se califica con cruces: 5 - 20 min. (+); 20 - 25 min. (++); 30 - Más (+++). esteroides (Monedero, 2016).

Ensayo de Bornträger: permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de NaOH, KOH o NH₄OH a 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado a rojo, el ensayo se considera positivo (+), coloración rosada (++), coloración roja (+++) (Monedero, 2016).

Radicales libres

Son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado por lo que son muy reactivos ya que tienden a robar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (Martínez, 2020).

Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye las células. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas y a membranas celulares (Martínez, 2020).

Los radicales libres contribuyen al proceso del envejecimiento cuando toman el electrón que les hace falta de las células del tejido colágeno de la piel, dando como consecuencia, que la piel pierda su elasticidad al dañarse las fibras elásticas y la aparición precoz de arrugas y sequedad. Los radicales libres también pueden contribuir al crecimiento

anormal de las células, al perder éstas la capacidad de reconocer las células vecinas. Esa proliferación sin control se produce en los tumores benignos o malignos (cáncer). Los radicales libres son moléculas que se derivan del oxígeno, están en continua formación en las células del organismo, y en pequeñas cantidades no producen efectos tóxicos (Martínez, 2020).

En situación normal la producción de radicales libres es constante en una concentración determinada y son neutralizados por las defensas antioxidantes, estas pueden ser sustancias propias del organismo (las enzimas antioxidantes), o pueden ser sustancias que vienen con los alimentos (la vitamina C, la E y el beta caroteno, flavonoides, etc.). En síntesis, las moléculas inestables de los radicales libres de alta energía con electrones desapareados en sus órbitas exteriores, tienden a reaccionar con los ácidos grasos poliinsaturados esto debido a que las moléculas estables tienen electrones en parejas. Sin embargo, si un electrón no se encuentra en pareja con otro se vuelve muy reactivo e inestable, por lo que buscará a otro electrón para emparejarse con él; lo que ocurre con los radicales libres (Pascua, 2011).

Cuando los radicales producen radicales alquilperóxido, facilitan la perpetuación de la cadena de reacciones de oxidación de los lípidos, con la consecuencia de estas reacciones genera una desorganización en las membranas celulares del organismo daños similares sobre las proteínas y los ácidos nucleicos. Al conocer los efectos negativos que provocan los radicales libres, se entender mejor la función y efecto que tienen los antioxidantes en la salud, que como su nombre lo indica, es evitar la oxidación de sustancias que puedan provocar alteraciones fisiológicas, facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno; formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales libres y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la

prevención de las enfermedades derivadas del estrés oxidativo (Pascua, 2011).

Radicales libres inorgánicos o primarios: Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de este y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidróxilo y el óxido nítrico (Rojo, 2015).

Radicales libres orgánicos o secundarios: Se pueden originar por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, poseen una vida media un tanto más largo que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre (Rojo, 2015).

Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno: Aquí se incluye un grupo de especies químicas que sin ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, los hidroperóxidos orgánicos (Rojo, 2015).

Acciones biológicas de los radicales libres de oxígeno

Las especies reactivas del oxígeno, muy especialmente el radical hidroxilo, son altamente reactivas y pueden dar lugar a reacciones secundarias útiles o nocivas con muchas sustancias presentes en el organismo o extraorgánicas (fagocitosis de organismos invasores). Son los productos finales de estas reacciones secundarias los que producirán los mayores efectos de citotoxicidad (Richter, 1979).

Los radicales libres ejercerán sus efectos en función de su concentración, localización y del estado de su sistema neutralizador (Richter, 1979).

Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar o inhibir la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en la sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad. El organismo está constantemente luchando contra los radicales libres. El problema para la salud se produce cuando el organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres durante años, producidos mayormente por contaminantes externos que penetran en el organismo como consecuencia de la contaminación atmosférica, el humo de cigarrillos que contiene hidrocarburos aromáticos polinucleares, así como aldehídos que producen distintos tipos de radicales libres en el organismo (Sánchez y Méndez, 2013).

Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres, que comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones en cadena mediante la eliminación de radicales libres intermedios, e inhiben otras reacciones de oxidación al oxidarse ellos mismos. En los últimos años, los antioxidantes naturales provenientes de plantas han sido frecuentemente usados en diferentes campos de la industria como preservantes en alimentos y en medicinas, muchos de estos compuestos como la quercetina, tocoferol y el caroteno, entre otros, son antioxidantes naturales que poseen gran actividad (Rivas y García, 2016).

Los antioxidantes son sustancias que retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles a las especies reactivas del oxígeno ya que donan sus hidrógenos a estas de manera que protegen las células contra el daño de los radicales libres (Rivas y García, 2016).

La importancia que tienen los antioxidantes, es que ayudan a defender los procesos patológicos y los procesos de desgaste naturales, y también sobre lo que se conoce como envejecimiento prematuro. (Sánchez, y Méndez, 2013).

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades. Otra de las funciones de los antioxidantes es facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno, formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales oxidantes también conocidos como radicales libres (moléculas inestables de alta energía con electrones desapareados en sus órbitas exteriores, que tienden a reaccionar con otros compuestos) y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles (Rivas y García, 2016).

Las principales características de un compuesto o sistema antioxidante son, la prevención o detección de una cadena de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado y la regeneración del antioxidante radicalario ayudando así a reducir el daño oxidativo en el cuerpo humano. Hay dos tipos principales de antioxidantes, el "primario" (ruptura de la reacción en cadena, secuestradores de radicales libres) y el "secundario" o "preventivo". Los mecanismos antioxidantes "secundarios" pueden incluir la desactivación de metales, inhibición de los hidroperóxidos lipídicos interrumpiendo la producción de volátiles indeseables, la regeneración de antioxidantes "primarios", eliminar el oxígeno (Richter, 1979).

Función fisiológica de los antioxidantes

Para entender mejor la función fisiológica de los antioxidantes en el organismo es necesario comprender que el oxígeno actúa como carburante en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas; liberándose dióxido de carbono, agua, energía calórica y diversos catabolitos; sin embargo, el incremento de los procesos metabólicos se acompaña de la producción de radicales libres (Sánchez y Méndez, 2013).

Al conocer los efectos negativos que provocan los radicales libres, se puede entender mejor la función y efecto que tienen los antioxidantes en la salud, que como su nombre lo indica, es evitar la oxidación de sustancias que puedan provocar alteraciones fisiológicas, facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno; formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales libres y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades derivadas del estrés oxidativo (Richter, 1979).

Clasificación de los antioxidantes

Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y el sistema no enzimático; también conocidos como endógenos y exógenos respectivamente, los cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular. El sistema no enzimático está integrado principalmente por sustancias como las vitaminas E, C, carotenoides y los minerales selenio y zinc (Sánchez y Méndez, 2013).

Métodos de determinación de la actividad antioxidante

Se basan en comprobar cómo un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o la muestra. Por otra parte, hay ensayos que se basan en la cuantificación de los productos formados tras el proceso oxidativo (Halliwell y Gutteridge,1990).

En este sentido, los distintos métodos difieren en el agente oxidante, en el sustrato empleado, en la medida del punto final, en la técnica instrumental utilizada y en las posibles interacciones de la muestra con el medio de reacción. Además, los objetivos de los diferentes métodos de medida son diversos. Entre ellos señalamos la medida de la resistencia a la oxidación, la evaluación cuantitativa del aporte en sustancias antioxidantes o la evaluación de la actividad antioxidante del plasma una vez suministrado (Halliwell y Gutteridge,1990).

Los métodos *in vitro* son útiles para comparar la actividad antioxidante de diferentes muestras. Los resultados son limitados desde un punto de, ya que no reproducen la situación fisiológica. Para alcanzar una mayor aproximación algunos ensayos incluyen radicales relevantes en los sistemas biológicos (O_2 , H_2O_2 , ROO , OH) (Halliwell y Gutteridge,1990).

Por otra parte, la actividad antioxidante *in vitro* difiere de su efecto antioxidante *in vivo*, ya que las transformaciones metabólicas que sufren los compuestos antioxidantes en el organismo modifican su actividad. Ciertos compuestos fenólicos poliméricos que presentan una baja actividad *in vitro* pueden, sin embargo, contribuir a la capacidad antioxidante del plasma después de su transformación metabólica en compuestos más simples. Así, dos muestras de té verde y negro, que daban resultados muy diferentes en experiencias *in vitro*, produjeron, tras

su consumo, un incremento similar en la capacidad antioxidante del plasma. Por ello es importante tener en consideración aspectos como el grado de absorción de los compuestos, los productos del metabolismo que generan y la actividad de los mismos (Halliwell y Gutteridge, 1990).

Las medidas *in vivo* pueden reflejar las posibles interacciones entre los distintos componentes de la dieta. Sin embargo, existen numerosos aspectos aún desconocidos en las medidas *in vivo*, como el modo de acción de los radicales dentro de los compartimentos celulares y si los compuestos antioxidantes se transportan al interior de los mismos (Halliwell y Gutteridge, 1990).

Determinación de la capacidad antioxidante

El más común en la generación de un radical y en el estudio de inhibición de esta reacción debido a la introducción del compuesto de ensayo, y el resultado depende del radical empleado, y por lo tanto mide la biológicamente más significativa se obtienen con los radicales peroxilo, que son los más comunes en el organismo humano (Sánchez y Méndez, 2013).

Definición Operacional de Términos

Tejido vegetal

Deriva de la división consecutiva de las células que componen el embrión de la semilla que se forma luego de la fecundación que se da en las plantas, se encarga del propio desarrollo de la planta, fotosíntesis, almacenamiento de sustancias, respiración, crecimiento y reparación de daños. En una planta pueden existir varios tipos de tejidos que se diferencian según su función, entre ellos están, los tejidos protectores,

conductores, tejidos de crecimiento, parenquimáticos, de sostén, secretor y meristemáticos (Vivas, 2000).

Fitoquímica

La fitoquímica es una disciplina que se encarga de la obtención de los compuestos producidos por las plantas a través de la extracción, el aislamiento, la purificación y elucidación de la estructura química. Además, se involucra en la caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias elaboradas por los vegetales que pueden ya sea, afectar o beneficiar la salud humana, a las plantas, animales y microorganismos (Sánchez, 2020).

Fitoterapia

La fitoterapia es la ciencia que se encarga de estudiar la utilización de los productos de origen vegetal con fines terapéuticos, bien sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico (Bandini, 2003).

Operacionalización de Variables

Las variables se operacionalizan con la finalidad de determinar la forma en que se van a medir las variables. En tal sentido, se operacionalizó la variable dependiente como la actividad antioxidante del extracto de etanol de las hojas de *Allamanda cathartica* (Tabla 1) y la variable independiente (Tabla 2) como la composición química de los extractos de las hojas de *Allamanda cathartica*.

Tabla 1. Variable Dependiente actividad antioxidante del extracto de etanol de las hojas de *Allamanda cathartica*.

Variable	Tipo	Definición conceptual
Actividad antioxidante del extracto etanol de las hojas de <i>Allamanda cathartica</i>	Dependiente	Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar o inhibir la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en la sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad (Sánchez, 2013)
Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	Metabolitos secundarios captadores de radicales libres	% de DPPH Inhibido Mayor a 50 %

Fuente: Acevedo y Pérez, 2024.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 2. Variable independiente composición química de los extractos de las hojas *Allamanda cathartica*.

1.- Variable	2.- Tipo	3.- Definición conceptual ¿Qué es?
Composición química de los extractos etanol de las hojas de <i>Allamanda cathartica</i> .	Independiente cualitativa	Metabolitos secundarios, es aquel que es propio de una especie, se le conoce también como producto natural y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza (Marcano y Hasegawa, 2002).
4.- Definición operacional ¿Cómo se mide?	5.- Dimensiones	6.- Indicador
Tamizaje fitoquímico Pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación	Alcaloides: Reacciones de Dragendorff, Wagner y Mayer.	Aparición de Turbidez o precipitados
	Triterpeno/Esteroles: Reacción de Liebermann-Bourchard.	Coloración Roja para triterpenos y verde para esteroides.
	Compuestos Fenólicos: Prueba de tricloruro férrico.	Coloración negra.
	Saponinas: Prueba de espuma.	Formación de espuma al agitar que se mantiene.
	Cumarina: Fluorescencia	Mediante el ensayo de hidróxido
	Flavonoides: Reacción de Shinoda y NaOH al 10 %.	Coloración roja en la prueba de shinoda y naranja o amarillo en la prueba de NaOH al 10 %.
	Antraquinonas: Con Hidróxido de amonio	Aparición de coloración rojiza
	Quinonas: Con ácido sulfúrico concentrado.	Aparición de coloración rojiza

Fuente: Acevedo y Pérez, 2024.

Hipótesis

Investigaciones previas han demostrado que especies del género *Allamanda* producen metabolitos secundarios que poseen diversas actividades biológicas, por lo tanto, es de esperar que los extractos de *A. cathartica* posean compuestos con propiedades similares antioxidantes.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

La investigación planteada, se clasifica en explicativa o confirmatoria, que se encarga de buscar el porqué de los hechos mediante el establecimiento de relaciones causa-efecto y sus resultados y conclusiones constituyen el nivel más profundo de conocimientos (Arias, 2012). De este modo, se confirmó la relación entre la composición química y la actividad antioxidante de los extractos de las hojas de *Allamanda cathartica*.

Alcance de la investigación

La investigación se clasifica dentro de un nivel descriptivo. Según Hernández, Fernández y Baptista (2003) “Los estudios descriptivos pretenden medir o recoger información de manera independiente o conjunta sobre los conceptos o las variables a los que se refieren” (p.119). Se considera pertinente emplear el nivel descriptivo porque permite descubrir y comprobar la posible asociación de las variables de la investigación, posibilitando un mayor acercamiento a la realidad.

Al mismo tiempo, el estudio es de tipo correlacional, ya que tiene como propósito medir el grado de relación que existe entre las variables involucradas. (Hurtado y Toro, 2005), dado que se quiere establecer la correlación entre la actividad antioxidante y composición química de *Allamanda cathartica* y que pueda ser útil en los procesos de defensa antioxidante de los tejidos del cuerpo humano.

Diseño de la Investigación

Según Hurtado (2008), el diseño de la investigación se refiere a las estrategias que se implementará para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber. En ese sentido, el diseño de la presente investigación es de tipo experimental, porque la especie vegetal se sometió a determinadas condiciones, estímulos o tratamientos, para observar los efectos o reacciones que se producían en la variable dependiente.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

Está representada por la especie vegetal *Allamanda cathartica* (Apocynaceae) y se recolectó en Ejido, Municipio Campo Elías del Estado Mérida.

Selección del Tamaño de la Muestra

La muestra estuvo integrada por la recolección de 500 gramos de material fresco hojas de la especie vegetal *Allamanda cathartica*.

Sistema de Variables

Mediante el proceso de operacionalización de las variables, se visualizan las propiedades del objeto que no son cuantificables directamente, son llevadas a expresiones más concretas y directamente medibles. Según su función las variables estudiadas en la presente investigación se clasifican en:

Variable Dependiente: actividad antioxidante del extracto de etanol de las hojas de *Allamanda cathartica*.

Variable Independiente: composición química de los extractos de las hojas de *Allamanda cathartica*.

Instrumento de Recolección de Datos

Los instrumentos que se utilizaron para la recolección de datos fueron fotografías y tablas donde se registraron los resultados de la composición química y actividad antioxidante de los extractos estudiados.

Procedimiento de la Investigación

Recolección y preparación del material vegetal

Las muestras de las hojas de *Allamanda cathartica* fueron colectadas por la autora de la investigación en Ejido municipio Campo Elías en un ambiente controlado y con las normas de seguridad que permitieron que la especie se mantenga fresca para su posterior análisis. Se identificó en el jardín de Plantas Medicinales Dr. Luis Ruíz Terán de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, se utilizó el Laboratorio del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes.

Obtención de los extractos

El material vegetal seco 100 gramos fue molido utilizando un equipo especial, luego se realizó un proceso de extracción (reflujo) usando como solventes hexano, diclorometano y etanol, en cada caso, se filtró y el solvente se evaporó hasta completa sequedad en un rotavapor, para finalmente obtener los extractos necesarios para realizar el respectivo análisis.

Tamizaje fitoquímico

El estudio fitoquímico preliminar se llevó a cabo mediante reacciones químicas destinadas a determinar la presencia de metabolitos secundarios en el material vegetal, siguiendo el procedimiento según Miranda y Cuellar (2000). En tal sentido, se realizaron los siguientes ensayos:

Reconocimientos de alcaloides

En este ensayo se tomó una porción de los extractos en 3 tubos de ensayo y se le adicionaron 2 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 5 % y posteriormente se introdujo en el Ultrasonic durante 2 min, para finalmente añadir 3 gotas del reactivo de Mayer, Wagner y Dragendorff respectivamente. Se considera la prueba positiva cuando aparece turbidez o precipitado en los tubos (Miranda y Cuellar, 2000).

Determinación de esteroides y/o triterpenos

En un tubo de ensayo limpio y seco se introduce una pequeña cantidad de los extractos, y se añadió 0,5 mL de anhídrido acético ($(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$) y dos gotas de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). La prueba se considera positiva al formarse una coloración azul o verde en la interfase que indica la presencia de esteroides, mientras que, si se torna de color rosa, rojo, magenta o violeta estaremos en presencia de triterpenos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Determinación de saponinas

Se prepara una solución acuosa de los extractos y se agito vigorosamente durante 1 minuto. En caso de presentarse espuma es

necesario tomar su altura y observar si se forma de manera abundante y estable por al menos 5 minutos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Reconocimiento de Compuestos fenólicos

A 1 mL de los extractos se le adiciona con unas gotas de cloruro férrico (FeCl_3) al 1 %. La presencia de compuestos fenólicos está determinada por la formación de una coloración que varía de azul a negro e indica la presencia de derivados del ácido gálico (Miranda y Cuellar, 2000).

Determinación de flavonoides

En un tubo de ensayo se coloca una porción representativa de cada extracto y se diluyó cada uno en sus respectivos solventes, posteriormente se adiciona dos gotas de ácido clorhídrico concentrado (HCl) y un trozo de magnesio metálico (Reacción de Shinoda), la aparición de una coloración naranja a rojo, indica la presencia de flavonas, si es rojo flavonoles y si es magenta flavononas (Miranda y Cuellar, 2000).

Reconocimiento de antraquinonas y cumarinas

A una porción de los extractos se le adiciona con gotas de hidróxido de amonio concentrado (NH_4OH). Se considera la prueba positiva para antraquinonas al tener la presencia de una coloración roja que aparece en los dos primeros minutos, posteriormente la muestra se visualiza bajo la luz ultravioleta, la emisión de fluorescencia de color azul, indica la presencia de cumarinas (Miranda y Cuellar, 2000).

Reconocimiento de taninos

El ensayo de la gelatina se toma 1-2 mg de la muestra y se disuelve en 2 mL de solución de gelatina. Si se observa la presencia del precipitado blanco indica la positividad de la prueba (Miranda y Cuellar, 2000).

Actividad inhibitoria del DPPH

El efecto de los extractos sobre el radical DPPH•, fue estimado usando el método experimental descrito por Díaz y cols (2011); en tal sentido, se tomó 3 mL de solución de metanol de DPPH• a 6×10^{-2} mM se mezcló con 1 mL de la muestra a ensayar (1000 µg/mL). Esta solución se dejó reposar en la oscuridad por 30 min a temperatura ambiente. Luego se realizó las lecturas de las absorbancias en un espectrofotómetro UV-visible (Spectronic Genesystm 10 Bio) a 517 nm. Una solución de 3 mL de DPPH• a 6×10^{-2} mM y 1 mL de metanol fue usado como control negativo, mientras que el control positivo será ácido ascórbico a la concentración de 1 mM. La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición (% In) lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH• neutralizado por el extracto a una determinada concentración y se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ In} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{M}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100$$

ADPPH: absorbancia del DPPH

AM: absorbancia de la muestra

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

Análisis Preliminar Fitoquímico

El análisis fitoquímico de los extractos obtenidos (hexano 36,53 g, diclorometano: 22,25 y etanol: 33,23 g) de las hojas de *Allamanda cathartica*, se realizó cualitativamente mediante pruebas químicas. Los mismos se colocaron en contacto con diversos reactivos químicos y se observaron las reacciones de coloración o precipitación características de cada prueba pudiendo así determinar la presencia de ciertos metabolitos secundarios.

A través de este análisis cualitativo se comprobó la presencia de los siguientes metabolitos: alcaloides, triterpenos, esteroides, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, cumarinas, quinonas, NaOH 10% (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas
A. cathartica

Pruebas Químicas	Extracto de hexano	Extracto de diclorometano	Extracto de etanol
Alcaloides	-	+	+
Triterpenos/Esteroles	-	+ Esteroles	+ Esteroles
Compuestos fenólicos	-	-	+
Saponinas	-	-	+
Flavonoides	-	-	-
Quinonas	-	-	-
Cumarinas	-	-	-

Fuente: Acevedo y Pérez, 2023

Leyenda: los resultados del tamizaje fitoquímico positivos se representan con (+) y la ausencia con (-).

Tabla 4. Reporte ilustrado de los resultados positivos del ensayo fitoquímico de los extractos de las hojas de *Allamanda cathartica*

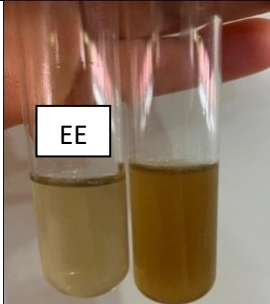
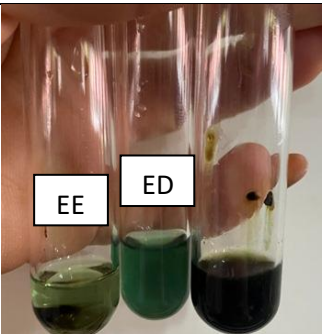
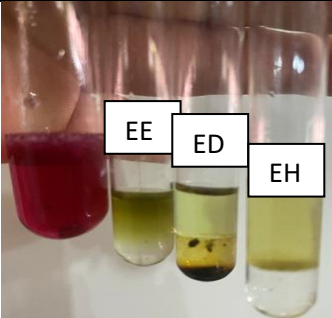
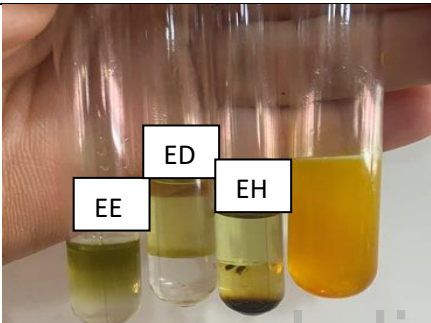
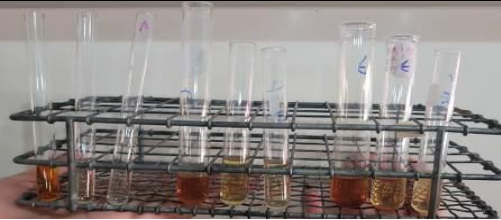
Prueba	Reporte
 Tubo 1: (EE) ligero precipitado blanco Tubo 2: (ED) cambio de color naranja	Prueba: Mayer, Dragendorff, Wagner Metabolito determinado: Alcaloides Reporte: Positivo para el extracto de etanol y diclorometano
 (EE)	Prueba: Cloruro férrico y Espuma Metabolito determinado: Compuestos fenólicos y Saponinas Reporte: Positivo para el extracto de etanol (EE) coloración negra y formación de espuma al agitar.
 Tubo 1: (EE) coloración verdosa positivo Tubo 2: (ED) coloración azul verdoso positivo.	Prueba: Liebermann-Burchard Metabolito determinado: Triterpenos/Esteroles Reporte: Positivo para Esteroles en los extractos con diclorometano (ED) y etanol (EE)

Tabla 4. Reporte ilustrado de los resultados positivos del ensayo fitoquímico de los extractos de las hojas de *Allamanda cathartica* (continuación)

 Tubo patrón: rojizo positivo Tubo 1: (EE) tubo 2 (ED) y tubo 3 (EH) negativo	Prueba: NaOH al 10 % Metabolito determinado: Flavonoides Reporte: Negativo
 Tubo patrón: positivos flavonoles Tubo 1: (EE) tubo 2 (ED) y tubo 3 (EH) negativo	Prueba: NaOH al 10 % Metabolito determinado: Flavonoides Reporte: Negativo
 Tubo 1 extracto de etanol (EE) negativo	Prueba: Fluorescencia Metabolito determinado: Cumarinas Reporte: Negativo
	Prueba: Flavonoides Metabolito determinado: Flavonoides Reporte: fotografía con los 3 jugos de tubos de los diferentes solventes. Negativo

Fuente: Acevedo y Pérez, 2023.

Actividad antioxidante

Se evaluó la actividad antioxidante del extracto de etanol de las hojas de *Allamanda cathartica* a una concentración de 1000ug/ml utilizando el método del radical libre 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo, se utilizó como patrón ácido ascórbico, se comparó el porcentaje de inhibición entre el patrón y el extracto de etanol de las hojas de *Allamanda cathartica* (Tabla 5, 6,7) (Figura15, 16).

Tabla 5. Resultados de la actividad Antioxidante *in vitro* por el método de secuestro del radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH).

Extractos de <i>Allamanda cathartica</i>	Concentración extractos	
	patrón referencia ($\mu\text{g/mL}$)	% Inh $\pm$ DE
Hojas Etanol	1000	86,667 $\pm$ 0,009
Patrón:	Ácido Ascórbico	95,833 $\pm$ 0,024

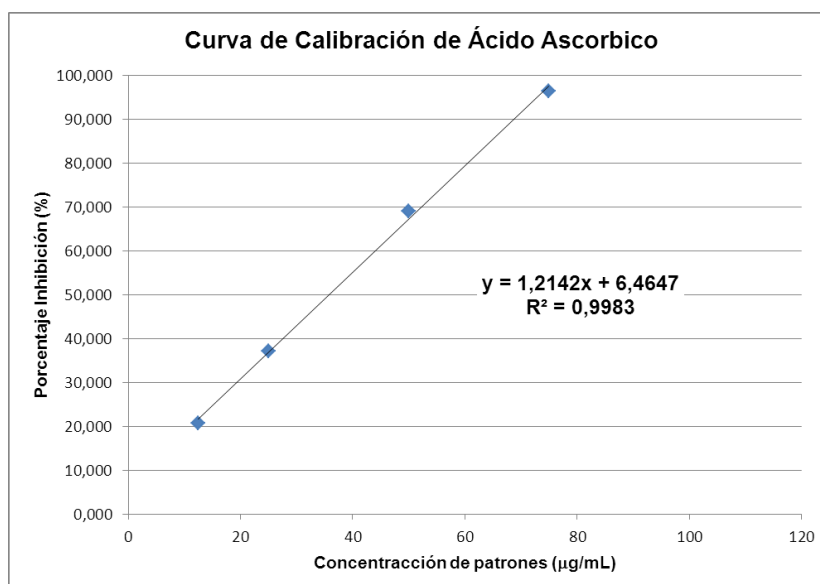
Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado del Porcentaje de Inhibición (% Inh) $\pm$ Desviación Estándar (DE) de extracto de etanol ensayados

Tabla 6. Curva de Calibración con Ácido Ascórbico

Muestras	Concentración de Patrones	Absorbancias Promedio	% Inh $\pm$ DE
Ácido Ascórbico ($\mu\text{g/mL}$)	12,5	0,552	20,678 $\pm$ 0,473
	25	0,438	37,098 $\pm$ 0,430
	50	0,216	69,028 $\pm$ 0,187
	75	0,025	96,362 $\pm$ 0,264
	100	0,020	97,080 $\pm$ 0,078
Patrón DPPH (mM)	0,06	0,696	0,000 $\pm$ 0,000

Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado del Porcentaje de Inhibición (% Inh) $\pm$ Desviación Estándar (DE) de las concentraciones patrones ensayados.

Figura 15. Curva de Calibración con Ácido Ascórbico



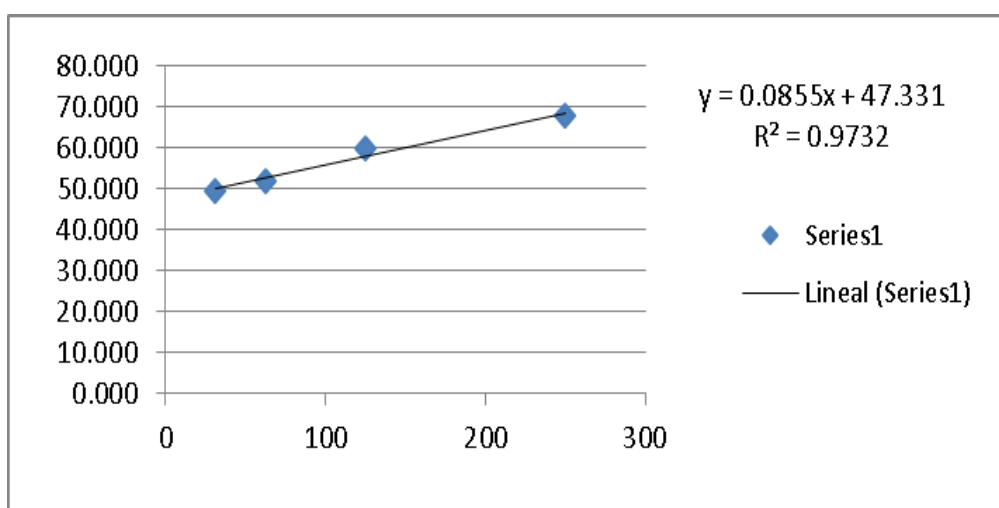
Fuente: Elaboración propia.

Tabla 7. Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀) del extracto de etanol de hojas de *Allamanda cathartica*.

Extractos analizados	Concentraciones (µg/mL)	% Inh ± DE	CI ₅₀ (µg/mL)
Hojas Etanol	31,25	49,556 ± 0,283	31.196 ± 0.934
	62,5	51,833 ± 0,360	
	125	60,056 ± 0,4781	
	250	67,944 ± 0,478	
	500	70,944 ± 0,208	
	1000	86,667 ± 0,009	

Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado del Porcentaje de Inhibición (% Inh) ± Desviación Estándar (DE) y Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀ expresada en µg/mL).

Figura 16. Determinación de la CI₅₀ del extracto de etanol de las hojas de *Allamanda cathartica*.



Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIONES

En la presente investigación se evaluaron los extractos obtenidos de las hojas de *Allamanda cathartica* a través del análisis fitoquímico con los disolventes: hexano, diclorometano y etanol, obteniendo cualitativamente los siguientes resultados: la presencia de alcaloides y esteroides en el extracto de etanol y diclorometano, compuestos fenólicos y saponinas en el extracto de etanol, en el extracto de hexano no se evidencia la presencia de ninguno de los metabolitos secundarios evaluados.

De tal manera *A. cathartica*, posee fitoquímicos que se registran en la literatura con importantes actividades, tal como lo evidenciaron Conrad y cols (2013) que reportan que el extracto etanólico de las hojas de *Allamanda cathartica* presentan saponinas, flavonoides y alcaloides. Lo cual coincide con lo hallado en esta investigación en los extractos analizados. Excluyendo los flavonoides los cuales se reportaron negativos.

Se ha obtenido que *Allamanda cathartica* posee diversas actividades biológicas, sus hojas contienen triterpenos esterificados, que previene los tumores y que además posee propiedades antivirales (Rojas, 2016). Relacionándose con el extracto etanólico en la presente investigación se hallaron esteroides.

La presencia de compuestos fenólicos en el extracto de etanol es de significancia, El fenol se compone de un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH). Son precisamente estas características químicas las que les confieren su poder antioxidante al donar átomos de oxígeno o neutralizar los radicales libres y las especies reactivas, estabilizándolos. La investigación del mecanismo antioxidante está relacionada con el agotamiento del oxígeno molecular, eliminación de iones metálicos prooxidantes y extinción de especies reactivas de oxígeno como, radical

aniónico superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales iniciadores de cadena. Los antioxidantes son eliminadores de radicales libres que actúan donando un átomo de hidrógeno para prevenir o retrasar los distintos pasos de la autooxidación y la propagación (Makris and Boskou, 2014) Además, es importante destacar, la actividad fitoquímica encontrada en la *Allamanda cathartica* ha demostrado en la literatura que el extracto etanólico, presenta actividad frente a *B. subtilis*, *E. coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella Typhimurium* y *Microsporum gypseum* (Rojas, 2016).

En el artículo publicado por Tun y cols (2020) donde se evaluó la actividad antitumoral de los extractos obtenidos de *A. cathartica*, se evidenció que los extractos de etanol, acetato de etilo y éter de petróleo tenían una significativa inhibición de los tumores, dependiente de la concentración de los mismos. Por otro lado, encontraron la actividad antioxidante y antimicrobiana especialmente en los extractos con etanol. Dicho extracto fue el que arrojó mayor positividad en las diferentes pruebas químicas lo cual se correlaciona con los estudios antes mencionados obteniendo resultados antioxidantes en el extracto de etanol.

Además, se evaluó la actividad antioxidante del extracto de etanol utilizando el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), los resultados obtenidos *in vitro* por este método fueron el porcentaje de inhibición $\pm$ desviación estándar fue $86,667 \pm 0,009$ en las hojas etanol, los resultados fueron satisfactorios, siendo similar con Bárcenas, Díaz y Flores (2012) quienes evaluaron la actividad antioxidante de 12 especies vegetales entre ellas las hojas de *Allamanda cathartica* y obtuvieron (% Inh) de $87.193 \pm$. Mientras que el ácido ascórbico obtuvo $95,833 \pm 0,024$. Sin embargo, a pesar de que el ácido ascórbico obtuvo mayor (% Inh), se observa en su curva de calibración que a medida que aumenta su concentración DPPH (mM) a 100 el porcentaje de Inhibición $\pm$ desviación estándar va en aumento $97,080 \pm 0,078$.

Finalmente se obtuvo los valores de Concentración Inhibitoria Media (CI_{50}) del extracto de etanol de hojas de *Allamanda cathartica*. Donde a medida que va aumentando la concentración del extracto de las hojas de etanol hasta alcanzar 1000 ($\mu\text{g/mL}$) se observa el aumento del porcentaje de inhibición de $86,667 \pm 0,009$. Con una concentración inhibitoria media de $31,196 \pm 0.934$ esta actividad se debe a los metabolitos encontrados los cuales fueron los compuestos fenólicos por tener la capacidad de estabilizar el radical libre. En el estudio de Hameed y cols (2014) el estado oxidante total fue más altos en las raíces en comparación con otras partes de la planta. Sin embargo, las proteínas solubles totales ($128 \pm 1,54 \text{ mg/g}$), el licopeno ($5,70 \pm 0,61 \text{ mg/g}$), la clorofila a ($161 \pm 24,9 \mu\text{g/g}$), el contenido total de clorofila ($267 \pm 34,3 \mu\text{g/g}$) y el contenido total de carotenoides ($12,4 \pm 1,71 \text{ mg/g}$) se encontró que era más alto en las hojas. Lo que indica que *A. cathartica* tiene propiedades en las diversas partes de la especie; en el presente estudio se obtuvo propiedades antioxidantes con el uso de las hojas de la especie.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Al evaluar los extractos de las hojas de *A. cathartica* se obtuvo la composición química de hexano, diclorometano y etanol. Además, se obtuvo los siguientes metabolitos secundarios presentes en los extractos de *A. cathartica*. Alcaloides el cual fue positivo para el extracto de diclorometano y etanol. Compuestos fenólicos y saponinas, positivo para el extracto de etanol y esteroides en los extractos con diclorometano y etanol.

No se hallaron flavonoides con el método tradicional ni con la prueba NaOH al 10 %. Al igual que las cumarinas fueron negativas bajo la prueba de fluorescencia, en las hojas de *Allamanda cathartica*.

Se determinó la actividad antioxidante *in vitro* del extracto de etanol de las hojas de *Allamanda cathartica* por el método de secuestro del radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH). Se encontró que el porcentaje de inhibición $\pm$ desviación estándar fue $86,667 \pm 0,009$ en el extracto de las hojas etanol. Y la concentración inhibitoria media obtenido del extracto de etanol de hojas de *A. cathartica*, donde a medida que va aumentando la concentración del extracto de las hojas de etanol hasta alcanzar 1000 ($\mu\text{g/mL}$) se observa el aumento del porcentaje de inhibición de $86,667 \pm 0,009$. Con una concentración inhibitoria media de $31,196 \pm 0,934$. A pesar de que el ácido ascórbico obtuvo mayor % Inhibición, en comparación al extracto de etanol queda demostrada su capacidad antioxidante.

Recomendaciones

Extender el estudio para la verificación de diversas propiedades de *Allamanda cathartica* como actividad antimicrobianas, antitumorales, antivirales.

Ampliar la investigación sobre la actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de *Allamanda cathartica* utilizando cepas de referencia internacional, lo cual permitirá aumentar el conocimiento sobre la presencia de esta actividad biológica en la especie vegetal.

Además, llevar a cabo la obtención de los extractos vegetales de partes diferentes de la planta tales como: tallos, flores y raíces, lo cual permitirá identificar otros metabolitos secundarios.

Analizar la actividad antioxidante de otras partes de la planta con el fin de obtener resultados para comparar sobre la presencia de esta propiedad en la especie.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRAFICAS

- Abad, A., Bahsas, A., Delgado, P., Amaro, J, y Neil, G. (2006). Actividad antimicrobiana y estudio fitoquímico preliminar de *Mandevilla veraguasensis* (Seem.) Helms. (Apocynáceas). *Avances en Química*, 1 (3),39-34.
- Ahumada, A., Ortega., Chito, D., y Benitez, R. (2016). Saponinas de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.): un subproducto con alto potencial biológico. Departamento. Editorial Smol.
- Arias, F. (2012). *El proyecto de investigación, guía para su elaboración*. Caracas: Episteme.
- Bárcenas, L., Díaz, L., Flores, G. (2012). Evaluación de la actividad antioxidante de 12 especies vegetales recolectadas en el área del pacifico durante el periodo de enero a mayo del 2012. Trabajo especial de grado. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN – LEÓN Facultad de Ciencias Químicas Farmacia.
- Bandoni, T.,Holzmann,T., Thiesen,L., Fratoni, E., y Fischer, A.(2017). Neuropharmacological and acute toxicological evaluation of ethanolic extract of *Allamanda cathartica* L. flowers and plumieride, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*,91(1) DOI: 10.1016/j.yrtph.2017.10.005.
- Cabrera, J. (2020). Identificación primaria de metabolitos secundarios de *Ulex europaeus* L. retamo espinoso y su actividad biológica. *Retrieved from* <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/97>
- Canales, D., Carazo, L., y Centeno, J. (2011). Determinación de los metabolitos secundarios de la hoja seca de la especie vegetal *Cordia inermis* mediante tamizaje fitoquímico. Trabajo de investigación. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
- Cantú, M. (2017). Estudios fitoquímicos sobre *Allamanda cathartica*L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), 33-34
- Celis, Á., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W., y Cuca, L. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con

- énfasis en la familia *Piperaceae*. Una revisión. *Agronomía Colombiana* , 26 (1), 97-105.
- Chaveerach A, Aungkapattamagul S, Tanee T, Noikotr K, Sudmoon R. (2014). Genetic verification and chemical contents identification of *Allamanda* species (Apocynaceae). *Pak J Pharm Sci.* 27(3):417-24. PMID: 24811796.
- Conrad, O., Dike, I., Agbara, U. (2013). *In vivo* antioxidant assessment of two antimalarial plants-*Allamanda cathartica* and *Bixa orellana*. *Asian Pac J Trop Biomed*;3(5):388-94. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60082-9.
- Dioscórides / Pseudo Dioscórides .(1998). Plantas y remedios medicinales. Obra completa. Madrid: Editorial Gredos. ISBN 978-84-249-1957-3.
- Ferreira, M., Lima, M., Moraes, F., Cantuária, P., Soares, A., Souza, A., Orellana, J., Orellana, B., Farias, A., Silva, A., Lima, R., y Almeida, S. (2023). Uma Breve Revisão das Propriedades Físico-Químicas e Fitoquímicas da Espécie Florestal *Allamanda cathartica* L. *Revista Arquivos Científicos (IMMES)*, 6(e.), 1 – 7
- García, S., Rivas, C. y Verde. (2016). Metodología científica para el estudio de las plantas medicinales. En C. Rivas, M. Orandy y Verde, J. (Eds.), *Investigación en plantas de importancia médica*. 1-40. Barcelona-España: OmniaScience.
- González-Rocha, E., y Cerros-Tlatilpa, R. (2015). La familia Apocynaceae (Apocynoideae y Rauvolfioideae) en el estado de Morelos, México. *Acta botánica mexicana*, (110), 21-70.
- Halliwell, B., y Gutteridge, J. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch. Biochem. Biophys*; 280: 1-8.
- Hameed, A., Nawaz G y Gulzar, T. (2014). Chemical composition, antioxidant activities and protein profiling of different parts of *Allamanda cathartica*. *Nat Prod Res.* 2014;28(22):2066-71. doi: 10.1080/14786419.2014.923997.
- Hernández, P., Fernández, C., y Baptista, P. (2003). Metodología de la investigación. McGraw-Hill Interamericana. México.

- Hurtado, I. y Toro, J. (2005). Paradigmas y métodos de investigación en tiempos de cambios. Valencia. Venezuela Episteme.
- Hurtado, J. (2008). *Investigación holística*. (3^a Ed). Caracas: Fundación Sygal.
- Marcano, D., y Hasegawa, H. (2002). *Fitoquímica Orgánica*. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas – Venezuela.
- Martínez, A. (2020). Química de Productos Naturales. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia
- Miranda, M y Cuellar, A. (2000). *Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales*. La Habana, Cuba: Editorial Félix Varela.
- Morales, J. (2005). Estudios en las Apocynaceae neotropicales XIX: La familia Apocynaceae (Rauvolfioideae, Apocynoideae) de Costa Rica. *Darwiniana*, 43 (1-4): 90-191
- Monedero, J. (2016). Identificación y Caracterización de Flavonoides por Espectrometría de Masas en Melazas Residuales de un Ingenio Azucarero. Trabajo Especial de Grado. Universidad Icesi Facultad de Ciencias Naturales. Departamento de Ciencias Farmacéuticas Santiago de Cali. Colombia.
- Organización Mundial para la Salud OMS. (2019). *CIE-11 para estadísticas de mortalidad y morbilidad*. CIE-11 (Who.int)
- Pascua, G. (2011). *Botanica generalee diversita vegetale*. 2da edición, Padova. Editorial Piccini.
- Peña, M. (2022). Actividad Biológica Antimicrobiana de Extractos de Plantas Medicinales en Colombia, Departamento del Atlántico. Trabajo de Investigación del Programa Microbiología. Universidad Simón Bolívar. Colombia.
- Petricevich, V., y Abarca-Vargas, R. (2019). *Allamanda cathartica*: A Review of the Phytochemistry, Pharmacology, Toxicology, and Biotechnology. *Molecules*. 24(7):1238-1260 doi: 10.3390/molecules24071238.
- Phillips, R. (2002). *The Botanical Garden* vol. II. Edit. Firefly Books. USA.

- Rafi, M., Pertiwi, T, y Syaefudin, S. (2019). Penentuan Kadar Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Enam Tanaman Hias. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 22 (3), 79-84.
- Richter, W. (1979). Características y técnicas de cultivación. Edit. Bologna. Northern Germany
- Rivas, L y García, C. (2016). Actividad Antioxidante y toxicidad. En Rivas-Morales C, Oranday-Cardenas, M., Verde-Star, M. (Eds.). Investigación en plantas de importancia médica. Barcelona, España: Omnia Science.
- Roberts, C. (2012). Biosíntesis. Revista cubana de plantas medicinales. 16 (5):145-256.
- Rodrigues , A., Mullera , T., Bonominia , L., Klein-Júniora., R., Lucinda-Silva A., Malheiros. (2020). Chemical Variability Of *Allamanda Cathartica* L. Flowers Assessed By Multivariate Data Analysis *Quim. Nova*, 43(2): 201-205
- Rojas, E (2016). Evaluación de la actividad antimicrobiana de plantas medicinales seleccionadas del Jardín Botánico del Orinoco, municipio Heres, Estado Bolívar. Revista de la Facultad de Farmacia. 58(1). Universidad de Los Andes, Facultad de Farmacia.
- Rojo, G. (2015). An updated classification for Apocynaceae *Phytotaxa*.159(3):175-194
- Sánchez, V., y Méndez, N. (2013). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Departamento de Investigación Biomédica, Fundación Clínica Médica Sur. 20(3): 161-168.
- Sánchez, F. (2020). Fitoquímica. México: Editorial FES Zaragoza.
- Tenorio, F., Mondragón, L., Pastelín, G. (2006). Los flavonoides y el sistema cardiovascular: ¿Pueden ser una alternativa terapéutica? Archivos de Cardiología de México, 76(4).
- Tun, Y., Lae, K., Win, N., Ngwe, H. (2020). Phytocemical constituents and some biological activities of the steam of *Allamada Cathartica*. (Shewewa-Pan. J. Myanmar Acad. Arts Sci; 18, 11-26.

- Vera, L., y Abarca, R. (2019). Allamanda cathartica: una revisión de la fitoquímica, farmacología, toxicología y biotecnología. *Moléculas* , 24 (7), 1238- 1260
- Venereo, J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista cubana de plantas medicinales*. 31(2):126-133.
- Vivas, C. (2000). *Guía de antibióticos*. Trabajo de ascenso no publicado. Universidad de Los Andes, Mérida
- Yeager, S. (2001). La Guía Medica de remedios Alimenticios. Estados Unidos de América *Rodale*. Inc. 3.
- Makris, D.P., Boskou, D., 2014. Plant-derived antioxidants as food additives., in: plants as a source of natural antioxidants. CABI 169e190

www.bdigital.ula.ve